FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Insumos Farmacêuticos e Especialidades

Brasília
2019

INSUMOS FARMACÊUTICOS E ESPECIALIDADES

ACETATO DE CÁLCIO	IF001-00
ACETATO DE DEXAMETASONA	IF002-00
ACETATO DE DEXAMETASONA CREME	EF001-00
ACETATO DE HIDROCORTISONA	IF003-00
ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA	IF004-00
ACETATO DE SÓDIO	IF005-00
ACETAZOLAMIDA	IF006-00
ACETILCISTEÍNA	IF007-00
ACETILRACEMETIONINA	IF008-00
ACICLOVIR	IF009-00
ACICLOVIR COMPRIMIDOS	EF002-00
ACICLOVIR CREME	EF003-00
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	IF010-00
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO COMPRIMIDOS	EF004-00
ÁCIDO ASCÓRBICO	IF011-00
ÁCIDO ASCÓRBICO COMPRIMIDOS	EF005-00
ÁCIDO ASCÓRBICO SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF006-00
ÁCIDO BENZOICO	IF012-00
ÁCIDO BÓRICO	IF013-00
ÁCIDO CÍTRICO	IF014-00
ÁCIDO DESIDROCÓLICO	IF015-00
ÁCIDO ESTEÁRICO	IF016-00
ÁCIDO FÓLICO	IF017-00
ÁCIDO FÓLICO COMPRIMIDOS	EF007-00
ÁCIDO FOSFÓRICO	IF018-00
ÁCIDO LÁCTICO	IF019-00
ÁCIDO MEFENÂMICO	IF020-00
ÁCIDO NALIDÍXICO	IF021-00
ÁCIDO NALIDÍXICO COMPRIMIDOS	EF008-00
ÁCIDO NALIDÍXICO SUSPENSÃO ORAL	EF009-00
ÁCIDO NICOTÍNICO	IF022-00
ÁCIDO PARAMINOBENZOICO	IF023-00
ÁCIDO SALICÍLICO	IF024-00
ÁCIDO SÓRBICO	IF025-00
ÁCIDO TRICLOROACÉTICO	IF026-00
ÁCIDO UNDECILÊNICO	IF027-00
ADENOSINA	IF028-00
ÁGAR-ÁGAR	IF029-00
ÁGUA ESTÉRIL PARA IRRIGAÇÃO	IF030-00
ÁGUA PARA INJETÁVEIS	IF031-00
ÁGUA PURIFICADA	IF032-00

ÁGUA ULTRAPURIFICADA	IF033-00
ALANINA	IF034-00
ALBENDAZOL	IF035-00
ALBENDAZOL COMPRIMIDOS	EF010-00
ALBENDAZOL SUSPENSÃO ORAL	EF011-00
ÁLCOOL BENZÍLICO	IF036-00
ÁLCOOL ETÍLICO	IF037-00
ALOPURINOL COMPRIMIDOS	EF012-00
AMARELO CREPÚSCULO	IF038-00
AMARELO CREPÚSCULO LACA DE ALUMÍNIO	IF039-00
AMARELO DE TARTRAZINA	IF040-00
AMIDO	IF041-00
AMINOFILINA	IF042-00
AMINOFILINA COMPRIMIDOS	EF013-00
AMOXICILINA	IF043-00
AMOXICILINA E CLAVULANATO DE POTÁSSIO COMPRIMIDOS	EF014-00
AMOXICILINA E CLAVULANATO DE POTÁSSIO PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF015-00
AMOXICILINA E CLAVULANATO DE POTÁSSIO PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF016-00
AMOXICILINA TRI-HIDRATADA CÁPSULAS	EF017-00
AMOXICILINA TRI-HIDRATADA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF018-00
AMPICILINA	IF044-00
AMPICILINA CÁPSULAS	EF019-00
AMPICILINA COMPRIMIDOS	EF020-00
AMPICILINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF021-00
AMPICILINA SÓDICA	IF045-00
AMPICILINA SÓDICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF022-00
AMPICILINA TRI-HIDRATADA CÁPSULAS	EF023-00
AMPICILINA TRI-HIDRATADA COMPRIMIDOS	EF024-00
AMPICILINA TRI-HIDRATADA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF025-00
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA	IF046-00
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF026-00
ARTEMÉTER	IF047-00
ARTEMÉTER SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF027-00
ARTESUNATO	IF048-00
ARTESUNATO COMPRIMIDOS	EF028-00
ASCORBATO DE SÓDIO	IF049-00
ATENOLOL	IF050-00
ATENOLOL COMPRIMIDOS	EF029-00
ATENOLOL E CLORTALIDONA COMPRIMIDOS	EF030-00
AZATIOPRINA	IF051-00
AZATIOPRINA COMPRIMIDOS	EF031-00
AZITROMICINA	IF052-00
AZITROMICINA CÁPSULAS	EF032-00
AZITROMICINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF033-00

BENZNIDAZOL	IF053-00
BENZOATO DE BENZILA	IF054-00
BENZOATO DE ESTRADIOL	IF055-00
BENZOCAÍNA	IF056-00
BENZOILMETRONIDAZOL	IF057-00
BENZOILMETRONIDAZOL SUSPENSÃO ORAL	EF034-00
BICARBONATO DE POTÁSSIO	IF058-00
BICARBONATO DE SÓDIO	IF059-00
BISACODIL	IF060-00
BISACODIL COMPRIMIDOS	EF035-00
BISACODIL SUPOSITÓRIOS	EF036-00
BISSULFATO DE CLOPIDOGREL	IF061-00
BISSULFATO DE CLOPIDOGREL COMPRIMIDOS	EF037-00
BORATO DE SÓDIO	IF062-00
BROMAZEPAM	IF063-00
BROMAZEPAM COMPRIMIDOS	EF038-00
BROMETO DE NEOSTIGMINA	IF064-00
BROMETO DE SÓDIO	IF065-00
BROMIDRATO DE CITALOPRAM	IF066-00
BROMIDRATO DE HIOSCIAMINA	IF067-00
BROMOPRIDA	IF068-00
BROMOPRIDA COMPRIMIDOS	EF039-00
BROMOPRIDA SOLUÇÃO ORAL	EF040-00
BUTILBROMETO DE ESCOPOLAMINA	IF069-00
BUTILBROMETO DE ESCOPOLAMINA COMPRIMIDOS	EF041-00
BUTILBROMETO DE ESCOPOLAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF042-00
CAFEÍNA	IF070-00
CALAMINA	IF071-00
CÂNFORA	IF072-00
CAPTOPRIL	IF073-00
CAPTOPRIL COMPRIMIDOS	EF043-00
CARBAMAZEPINA	IF074-00
CARBAMAZEPINA COMPRIMIDOS	EF044-00
CARBIDOPA	IF075-00
CARBONATO BÁSICO DE BISMUTO	IF076-00
CARBONATO DE CÁLCIO	IF077-00
CARBONATO DE LÍTIO	IF078-00
CARBONATO DE MAGNÉSIO	IF079-00
CARBONATO DE POTÁSSIO	IF080-00
CARBONATO DE SÓDIO	IF081-00
CARBOPLATINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF045-00
CARRAGENINA	IF082-00
CEFACLOR	IF083-00
CEFACLOR CÁPSULAS	EF046-00
CEFACLOR SUSPENSÃO ORAL	EF047-00
CEFADROXILA	IF084-00

CEFADROXILA CÁPSULAS	EF048-00
CEFADROXILA COMPRIMIDOS	EF049-00
CEFADROXILA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF050-00
CEFALEXINA	IF085-00
CEFALEXINA COMPRIMIDOS	EF051-00
CEFALEXINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF052-00
CEFALOTINA SÓDICA	IF086-00
CEFALOTINA SÓDICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF053-00
CEFAZOLINA SÓDICA	IF087-00
CEFOXITINA SÓDICA	IF088-00
CEFOXITINA SÓDICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF054-00
CEFTAZIDIMA PENTAIDRATADA	IF089-00
CEFTAZIDIMA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF055-00
CETOCONAZOL COMPRIMIDOS	EF056-00
CETOCONAZOL XAMPU	EF057-00
CETOPROFENO	IF090-00
CIANOCOBALAMINA	IF091-00
CIANOCOBALAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF058-00
CICLOPIROX OLAMINA	IF092-00
CICLOPIROX OLAMINA SOLUÇÃO TÓPICA	EF059-00
CIMETIDINA	IF093-00
CIMETIDINA COMPRIMIDOS	EF060-00
CIPIONATO DE ESTRADIOL	IF094-00
CIPROFLOXACINO	IF095-00
CIPROFLOXACINO SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF061-00
CITALOPRAM COMPRIMIDOS	EF062-00
CISPLATINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF063-00
CITRATO DE LÍTIO	IF096-00
CITRATO DE POTÁSSIO	IF097-00
CITRATO DE SÓDIO	IF098-00
CLARITROMICINA	IF099-00
CLARITROMICINA COMPRIMIDOS	EF064-00
CLARITROMICINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF065-00
CLAVULANATO DE POTÁSSIO	IF100-00
CLOFAZIMINA	IF101-00
CLONAZEPAM	IF102-00
CLONAZEPAM COMPRIMIDOS	EF066-00
CLONAZEPAM SOLUÇÃO ORAL	EF067-00
CLORANFENICOL	IF103-00
CLORETO DE AMÔNIO	IF104-00
CLORETO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	IF105-00
CLORETO DE CÁLCIO HEXAIDRATADO	IF106-00
CLORETO DE METACOLINA	IF107-00
CLORETO DE SÓDIO	IF108-00
CLORETO DE SÓDIO SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF068-00
CLORETO DE ZINCO	IF109-00

CLORIDRATO DE ALFENTANILA	IF110-00
CLORIDRATO DE AMILORIDA	IF111-00
CLORIDRATO DE AMILORIDA E HIDROCLOROTIAZIDA COMPRIMIDOS	EF069-00
CLORIDRATO DE AMIODARONA	IF112-00
CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA	IF113-00
CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA CÁPSULAS	EF070-00
CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA COMPRIMIDOS	EF071-00
CLORIDRATO DE BIPERIDENO	IF114-00
CLORIDRATO DE BIPERIDENO COMPRIMIDOS	EF072-00
CLORIDRATO DE BUPIVACAÍNA	IF115-00
CLORIDRATO DE BUPIVACAÍNA E GLICOSE SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF073-00
CLORIDRATO DE CICLOBENZAPRINA	IF116-00
CLORIDRATO DE CICLOBENZAPRINA COMPRIMIDOS	EF074-00
CLORIDRATO DE CIMETIDINA	IF117-00
CLORIDRATO DE CIMETIDINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF075-00
CLORIDRATO DE CINCHOCAÍNA	IF118-00
CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO	IF119-00
CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO COMPRIMIDOS	EF076-00
CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO SOLUÇÃO OFTÁLMICA	EF077-00
CLORIDRATO DE CLINDAMICINA	IF120-00
CLORIDRATO DE CLINDAMICINA CÁPSULAS	EF078-00
CLORIDRATO DE DIFENIDRAMINA	IF121-00
CLORIDRATO DE DIFENIDRAMINA COMPRIMIDOS	EF079-00
CLORIDRATO DE DIFENIDRAMINA SOLUÇÃO ORAL	EF080-00
CLORIDRATO DE DILTIAZEM	IF122-00
CLORIDRATO DE DILTIAZEM COMPRIMIDOS	EF081-00
CLORIDRATO DE DOPAMINA	IF123-00
CLORIDRATO DE DULOXETINA	IF124-00
CLORIDRATO DE DULOXETINA CÁPSULAS	EF082-00
CLORIDRATO DE EPINASTINA	IF125-00
CLORIDRATO DE EPINASTINA COMPRIMIDOS	EF083-00
CLORIDRATO DE ETAMBUTOL	IF126-00
CLORIDRATO DE ETAMBUTOL COMPRIMIDOS REVESTIDOS	EF084-00
CLORIDRATO DE FENILEFRINA	IF127-00
CLORIDRATO DE FEXOFENADINA	IF128-00
CLORIDRATO DE FEXOFENADINA COMPRIMIDOS	EF085-00
CLORIDRATO DE FLUOXETINA	IF129-00
CLORIDRATO DE FLUOXETINA COMPRIMIDOS	EF086-00
CLORIDRATO DE FLURAZEPAM COMPRIMIDOS	EF087-00
CLORIDRATO DE HIDRALAZINA	IF130-00
CLORIDRATO DE HIDRALAZINA COMPRIMIDOS	EF088-00
CLORIDRATO DE HIDRALAZINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF089-00
CLORIDRATO DE IMIPRAMINA	IF131-00
CLORIDRATO DE IMIPRAMINA COMPRIMIDOS	EF090-00
CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA	IF132-00
CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA GEL	EF091-00

CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA POMADA	EF092-00
CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF093-00
CLORIDRATO DE MEFLOQUINA	IF133-00
CLORIDRATO DE MEFLOQUINA COMPRIMIDOS	EF094-00
CLORIDRATO DE METFORMINA	IF134-00
CLORIDRATO DE METFORMINA COMPRIMIDOS	EF095-00
CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA COMPRIMIDOS	EF096-00
CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF097-00
CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA SOLUÇÃO ORAL	EF098-00
CLORIDRATO DE NAFAZOLINA	IF135-00
CLORIDRATO DE PILOCARPINA	IF136-00
CLORIDRATO DE PIRIDOXINA	IF137-00
CLORIDRATO DE PIRIDOXINA COMPRIMIDOS	EF099-00
CLORIDRATO DE PROMETAZINA	IF138-00
CLORIDRATO DE PROMETAZINA COMPRIMIDOS	EF100-00
CLORIDRATO DE PROMETAZINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF101-00
CLORIDRATO DE PROPRANOLOL	IF139-00
CLORIDRATO DE PROPRANOLOL COMPRIMIDOS	EF102-00
CLORIDRATO DE RANITIDINA	IF140-00
CLORIDRATO DE RANITIDINA COMPRIMIDOS	EF103-00
CLORIDRATO DE SERTRALINA	IF141-00
CLORIDRATO DE SERTRALINA COMPRIMIDOS	EF104-00
CLORIDRATO DE SIBUTRAMINA MONOIDRATADA CÁPSULAS	EF105-00
CLORIDRATO DE TETRACAÍNA	IF142-00
CLORIDRATO DE TETRACICLINA	IF143-00
CLORIDRATO DE TETRACICLINA CÁPSULAS	EF106-00
CLORIDRATO DE TETRIZOLINA	IF144-00
CLORIDRATO DE TIAMINA	IF145-00
CLORIDRATO DE TIAMINA COMPRIMIDOS	EF107-00
CLORIDRATO DE TIAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF108-00
CLORIDRATO DE TRAMADOL	IF146-00
CLORIDRATO DE TRAMADOL SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF109-00
CLORIDRATO DE VERAPAMIL	IF147-00
CLORIDRATO DE VERAPAMIL COMPRIMIDOS	EF110-00
CLORIDRATO DE VERAPAMIL SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF111-00
CLOROIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO	IF148-00
CLOROQUINA	IF149-00
CLORPROPAMIDA	IF150-00
CLORPROPAMIDA COMPRIMIDOS	EF112-00
CLORTALIDONA	IF151-00
CLORTALIDONA COMPRIMIDOS	EF113-00
CLOZAPINA	IF152-00
CLOZAPINA COMPRIMIDOS	EF114-00
COLCHICINA	IF153-00
COLCHICINA COMPRIMIDOS	EF115-00
DAPSONA	IF154-00

DEXAMETASONA	IF155-00
DEXAMETASONA ELIXIR	EF116-00
DIAZEPAM	IF156-00
DIAZEPAM COMPRIMIDOS	EF117-00
DIAZEPAM SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF118-00
DICLOFENACO POTÁSSICO	IF157-00
DICLOFENACO POTÁSSICO COMPRIMIDOS	EF119-00
DICLOFENACO SÓDICO	IF158-00
DIFOSFATO DE CLOROQUINA	IF159-00
DIFOSFATO DE CLOROQUINA COMPRIMIDOS	EF120-00
DIFOSFATO DE PRIMAQUINA	IF160-00
DIFOSFATO DE PRIMAQUINA COMPRIMIDOS	EF121-00
DIGOXINA	IF161-00
DIGOXINA COMPRIMIDOS	EF122-00
DIGOXINA SOLUÇÃO ORAL	EF123-00
DIPIRONA MONOIDRATADA	IF162-00
DIPIRONA MONOIDRATADA COMPRIMIDOS	EF124-00
DIPIRONA MONOIDRATADA SOLUÇÃO ORAL	EF125-00
EFAVIRENZ	IF163-00
EFAVIRENZ COMPRIMIDOS	EF126-00
EMBONATO DE PIRVÍNIO	IF164-00
ENTACAPONA	IF165-00
ENTACAPONA COMPRIMIDOS	EF127-00
ERGOCALCIFEROL	IF166-00
ESPIRONOLACTONA	IF167-00
ESQUALANO	IF168-00
ESTEARATO DE MACROGOL	IF169-00
ESTEARATO DE ZINCO	IF170-00
ESTOLATO DE ERITROMICINA	IF171-00
ESTOLATO DE ERITROMICINA COMPRIMIDOS	EF128-00
ESTOLATO DE ERITROMICINA SUSPENSÃO ORAL	EF129-00
ESTRADIOL	IF172-00
ESTRONA	IF173-00
ÉTER ETÍLICO	IF174-00
ETINILESTRADIOL	IF175-00
ETIONAMIDA	IF176-00
ETIONAMIDA COMPRIMIDOS	EF130-00
FENINDIONA	IF177-00
FENITOÍNA	IF178-00
FENITOÍNA COMPRIMIDOS	EF131-00
FENITOÍNA SÓDICA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF132-00
FENOBARBITAL	IF179-00
FENOBARBITAL COMPRIMIDOS	EF133-00
FENOBARBITAL SOLUÇÃO ORAL	EF134-00
FENOL	IF180-00
FENOXIMETILPENICILINA POTÁSSICA	IF181-00

FITOMENADIONA	IF182-00
FLUCONAZOL	IF183-00
FLUCONAZOL CÁPSULAS	EF135-00
FLUNITRAZEPAM COMPRIMIDOS	EF136-00
FLUNITRAZEPAM SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF137-00
FLUOCINOLONA ACETONIDA	IF184-00
FLUORESCEÍNA SÓDICA	IF185-00
FLUORETO DE SÓDIO	IF186-00
FLUORETO DE SÓDIO SOLUÇÃO ORAL	EF138-00
FLUORETO ESTANOSO	IF187-00
FLUTAMIDA	IF188-00
FLUTAMIDA COMPRIMIDOS	EF139-00
FOLINATO DE CÁLCIO	IF189-00
FOSFATO DE ALUMÍNIO	IF190-00
FOSFATO DE AMÔNIO DIBÁSICO	IF191-00
FOSFATO DE CÁLCIO DIBÁSICO DI-HIDRATADO	IF192-00
FOSFATO DE CÁLCIO TRIBÁSICO	IF193-00
FOSFATO DE CLINDAMICINA	IF194-00
FOSFATO DE CLINDAMICINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF140-00
FOSFATO DE CODEÍNA	IF195-00
FOSFATO DE SÓDIO DIBÁSICO	IF196-00
FOSFATO DE SÓDIO MONOBÁSICO	IF197-00
FOSFATO DE SÓDIO SOLUÇÃO ORAL	EF141-00
FOSFATO DISSÓDICO DE DEXAMETASONA	IF198-00
FOSFATO SÓDICO DE RIBOFLAVINA	IF199-00
FTALATO DE ETILA	IF200-00
FURAZOLIDONA	IF201-00
FUROSEMIDA	IF202-00
FUROSEMIDA COMPRIMIDOS	EF142-00
FUROSEMIDA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF143-00
GENFIBROZILA	IF203-00
GLIBENCLAMIDA	IF204-00
GLIBENCLAMIDA COMPRIMIDOS	EF144-00
GLICEROL	IF205-00
GLICEROL SUPOSITÓRIOS	EF145-00
GLICINA	IF206-00
GLICLAZIDA	IF207-00
GLICONATO DE COBRE	IF208-00
GLICONATO DE MAGNÉSIO	IF209-00
GLICONATO DE ZINCO	IF210-00
GLICOSE	IF211-00
GLICOSE SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF146-00
GRISEOFULVINA	IF212-00
HALOPERIDOL	IF213-00
HALOPERIDOL COMPRIMIDOS	EF147-00
HALOPERIDOL SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF148-00

HALOPERIDOL SOLUÇÃO ORAL	EF149-00
HALOTANO	IF214-00
HEXILRESORCINA	IF215-00
HICLATO DE DOXICICLINA	IF216-00
HIDROCLOROTIAZIDA	IF217-00
HIDROCLOROTIAZIDA COMPRIMIDOS	EF150-00
HIDROCORTISONA	IF218-00
HIDROQUINONA	IF219-00
HIDROXICOBALAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF151-00
HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO	IF220-00
HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS	EF152-00
HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO GEL	EF153-00
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO	IF221-00
HIDRÓXIDO DE MAGNÉSIO	IF222-00
HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO	IF223-00
HIDRÓXIDO DE SÓDIO	IF224-00
HIPOCLORITO DE SÓDIO SOLUÇÃO DILUÍDA	EF154-00
IBUPROFENO	IF225-00
IBUPROFENO COMPRIMIDOS	EF155-00
IBUPROFENO SUSPENSÃO ORAL	EF156-00
INDOMETACINA	IF226-00
INDOMETACINA CÁPSULAS	EF157-00
INDOMETACINA SUPOSITÓRIOS	EF158-00
IODETO DE POTÁSSIO	IF227-00
IODETO DE SÓDIO	IF228-00
IODO	IF229-00
IODO, TINTURA FORTE	EF159-00
IODO, TINTURA FRACA	EF160-00
ISONIAZIDA	IF230-00
ISONIAZIDA COMPRIMIDOS	EF161-00
ISOTIOCIANATO DE ALILA	IF231-00
ISOTRETINOÍNA CÁPSULAS	EF162-00
LACTATO DE CÁLCIO	IF232-00
LAMIVUDINA	IF233-00
LAMIVUDINA COMPRIMIDOS	EF163-00
LAMOTRIGINA	IF234-00
LAMOTRIGINA COMPRIMIDOS	EF164-00
LANATOSÍDEO C	IF235-00
LAURILSULFATO DE SÓDIO	IF236-00
LEFLUNOMIDA	IF237-00
LEFLUNOMIDA COMPRIMIDOS	EF165-00
LEVODOPA	IF238-00
LEVONORGESTREL	IF239-00
LEVONORGESTREL E ETINILESTRADIOL COMPRIMIDOS	EF166-00
LIDOCAÍNA	IF240-00
LORATADINA	IF241-00

LORATADINA COMPRIMIDOS	EF167-00
LORATADINA SOLUÇÃO ORAL	EF168-00
LORATADINA E SULFATO DE PSEUDOEFEDRINA SOLUÇÃO ORAL	EF169-00
LOSARTANA POTÁSSICA	IF242-00
MACROGOL	IF243-00
MALEATO DE CLORFENIRAMINA	IF244-00
MALEATO DE DEXCLORFENIRAMINA	IF245-00
MALEATO DE DEXCLORFENIRAMINA COMPRIMIDOS	EF170-00
MALEATO DE DEXCLORFENIRAMINA SOLUÇÃO ORAL	EF171-00
MALEATO DE ENALAPRIL	IF246-00
MALEATO DE ENALAPRIL COMPRIMIDOS	EF172-00
MALEATO DE LEVOMEPROMAZINA	IF247-00
MEBENDAZOL	IF248-00
MEBENDAZOL COMPRIMIDOS	EF173-00
MEBENDAZOL SUSPENSÃO ORAL	EF174-00
MERBROMINA	IF249-00
MEROPENÉM	IF250-00
MEROPENÉM TRI-HIDRATADO PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF175-00
MESILATO DE GEMIFLOXACINO COMPRIMIDOS	EF176-00
METABISSULFITO DE SÓDIO	IF251-00
METAFOSFATO DE POTÁSSIO	IF252-00
METILBROMETO DE HOMATROPINA	IF253-00
METILDOPA	IF254-00
METILDOPA COMPRIMIDOS	EF177-00
METILPARABENO	IF255-00
METOTREXATO	IF256-00
METRONIDAZOL	IF257-00
METRONIDAZOL COMPRIMIDOS	EF178-00
METRONIDAZOL SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF179-00
MICOFENOLATO DE MOFETILA	IF258-00
MICOFENOLATO DE MOFETILA COMPRIMIDOS	EF180-00
MICOFENOLATO DE SÓDIO	IF259-00
MICOFENOLATO DE SÓDIO COMPRIMIDOS	EF181-00
MITOTANO	IF260-00
MITOTANO COMPRIMIDOS	EF182-00
NAPROXENO	IF261-00
NICOTINAMIDA	IF262-00
NIFEDIPINO	IF263-00
NIFEDIPINO CÁPSULAS	EF183-00
NIMESULIDA	IF264-00
NIMESULIDA COMPRIMIDOS	EF184-00
NISTATINA	IF265-00
NISTATINA COMPRIMIDOS VAGINAIS	EF185-00
NISTATINA CREME VAGINAL	EF186-00
NISTATINA SUSPENSÃO ORAL	EF187-00
NITAZOXANIDA	IF266-00

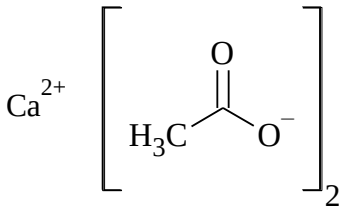
NITAZOXANIDA COMPRIMIDOS	EF188-00
NITAZOXANIDA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL	EF189-00
NITRATO DE MICONAZOL	IF267-00
NITRATO DE PRATA	IF268-00
NITRATO DE PRATA SOLUÇÃO OFTÁLMICA	EF190-00
NITRATO DE TIAMINA	IF269-00
NITRITO DE SÓDIO	IF270-00
NITROFURANTOÍNA	IF271-00
NITROFURANTOÍNA COMPRIMIDOS	EF191-00
NORFLOXACINO	IF272-00
OCTACLOROIDRATO DE ALUMÍNIO E ZIRCÔNIO	IF273-00
OCTACLOROIDRATO DE ALUMÍNIO E ZIRCÔNIO SOLUÇÃO	EF192-00
OFLOXACINO	IF274-00
OFLOXACINO COMPRIMIDOS	EF193-00
OFLOXACINO SOLUÇÃO OFTÁLMICA	EF194-00
ÓLEO DE AMENDOIM	IF275-00
ÓLEO DE GERGELIM	IF276-00
OMEPRAZOL	IF277-00
ÓXIDO DE MAGNÉSIO	IF278-00
ÓXIDO DE ZINCO	IF279-00
PANTOPRAZOL SÓDICO	IF280-00
PANTOPRAZOL SÓDICO CÁPSULAS	EF195-00
PANTOPRAZOL SÓDICO GRÂNULOS GASTRORRESISTENTES	EF196-00
PANTOTENATO DE CÁLCIO	IF281-00
PARACETAMOL	IF282-00
PARACETAMOL COMPRIMIDOS	EF197-00
PARACETAMOL SOLUÇÃO ORAL	EF198-00
PARAMINOBENZOATO DE POTÁSSIO	IF283-00
PERCLORATO DE POTÁSSIO	IF284-00
PERMANGANATO DE POTÁSSIO	IF285-00
PETROLATO BRANCO	IF286-00
PETROLATO LÍQUIDO	IF287-00
PIPERAZINA	IF288-00
PIRAZINAMIDA	IF289-00
PIRAZINAMIDA COMPRIMIDOS	EF199-00
PIRIMETAMINA	IF290-00
PIRIMETAMINA COMPRIMIDOS	EF200-00
PIROXICAM	IF291-00
PIROXICAM CÁPSULAS	EF201-00
PIROXICAM GEL	EF202-00
POLISSORBATO 20	IF292-00
POLISSORBATO 40	IF293-00
POLISSORBATO 60	IF294-00
POLISSORBATO 80	IF295-00
PRAZIQUANTEL	IF296-00
PRAZIQUANTEL COMPRIMIDOS	EF203-00

PREDNISONA	IF297-00
PREDNISONA COMPRIMIDOS	EF204-00
PROGESTERONA	IF298-00
PROPILPARABENO	IF299-00
PROPILTIOURACILA	IF300-00
PROPIONATO DE TESTOSTERONA	IF301-00
RABEPRAZOL SÓDICO	IF302-00
RABEPRAZOL SÓDICO COMPRIMIDOS	EF205-00
RIFAMPICINA	IF303-00
RIFAMPICINA CÁPSULAS	EF206-00
RIFAMPICINA SUSPENSÃO ORAL	EF207-00
RITONAVIR CÁPSULAS	EF208-00
SACAROSE	IF304-00
SAIS PARA REIDRATAÇÃO ORAL	EF209-00
SALICILATO DE METILA	IF305-00
SINVASTATINA	IF306-00
SINVASTATINA CÁPSULAS	EF210-00
SINVASTATINA COMPRIMIDOS	EF211-00
SOLUÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE ÓRGÃOS	EF212-00
SOLUÇÕES PARA DIÁLISE PERITONEAL	EF213-00
SOLUÇÕES PARA HEMOFILTRAÇÃO E HEMODIAFILTRAÇÃO	EF214-00
SOLUÇÕES PARA IRRIGAÇÃO	EF215-00
SULFADIAZINA	IF307-00
SULFADIAZINA COMPRIMIDOS	EF216-00
SULFAMETOXAZOL	IF308-00
SULFAMETOXAZOL E TRIMETOPRIMA COMPRIMIDOS	EF217-00
SULFAMETOXAZOL E TRIMETOPRIMA SUSPENSÃO ORAL	EF218-00
SULFAMETOXIPIRIDAZINA	IF309-00
SULFANILAMIDA	IF310-00
SULFATO DE ATROPINA	IF311-00
SULFATO DE ATROPINA MONOIDRATADO SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF219-00
SULFATO DE BÁRIO	IF312-00
SULFATO DE CÁLCIO	IF313-00
SULFATO DE CEFPIROMA	IF314-00
SULFATO DE CEFPIROMA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF220-00
SULFATO DE EFEDRINA	IF315-00
SULFATO DE EFEDRINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF221-00
SULFATO DE ESTREPTOMICINA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF222-00
SULFATO DE INDINAVIR	IF317-00
SULFATO DE MAGNÉSIO	IF318-00
SULFATO DE MORFINA	IF319-00
SULFATO DE MORFINA COMPRIMIDOS	EF223-00
SULFATO DE MORFINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF224-00
SULFATO DE NEOMICINA	IF320-00
SULFATO DE POTÁSSIO	IF321-00
SULFATO DE PSEUDOEFEDRINA	IF322-00

SULFATO DE SALBUTAMOL	IF323-00
SULFATO DE SALBUTAMOL COMPRIMIDOS	EF225-00
SULFATO DE SALBUTAMOL SOLUÇÃO ORAL	EF226-00
SULFATO DE SÓDIO	IF324-00
SULFATO DE ZINCO	IF325-00
SULFATO FERROSO	IF326-00
SULFATO FERROSO COMPRIMIDOS	EF227-00
SULFATO FERROSO HEPTAIDRATADO	IF316-00
SULFATO FERROSO SOLUÇÃO ORAL	EF228-00
SULFETO DE SELÊNIO	IF327-00
SULFITO DE SÓDIO	IF328-00
SULPIRIDA	IF329-00
TARTARATO DE ANTIMÔNIO E POTÁSSIO	IF330-00
TARTARATO DE ANTIMÔNIO E SÓDIO	IF331-00
TARTARATO DE METOPROLOL COMPRIMIDOS	EF229-00
TARTARATO DE POTÁSSIO E SÓDIO	IF332-00
TEOFILINA	IF333-00
TERCONAZOL	IF334-00
TERCONAZOL CREME	EF230-00
TIABENDAZOL	IF335-00
TIABENDAZOL COMPRIMIDOS	EF231-00
TIABENDAZOL POMADA	EF232-00
TIABENDAZOL SUSPENSÃO ORAL	EF233-00
TIAMAZOL	IF336-00
TOLMETINA SÓDICA	IF337-00
TRETINOÍNA	IF338-00
TRETINOÍNA CREME	EF234-00
TRETINOÍNA GEL	EF235-00
TRIMETOPRIMA	IF339-00
UREIA	IF340-00
VARFARINA SÓDICA	IF341-00
VARFARINA SÓDICA COMPRIMIDOS	EF236-00
VERMELHO AMARANTO	IF342-00
VERMELHO AMARANTO LACA DE ALUMÍNIO	IF343-00
VERMELHO DE PONCEAU	IF344-00
VERMELHO DE PONCEAU LACA DE ALUMÍNIO	IF345-00
ZIDOVUDINA	IF346-00
ZIDOVUDINA CÁPSULAS	EF237-00
ZIDOVUDINA SOLUÇÃO INJETÁVEL	EF238-00
ZIDOVUDINA SOLUÇÃO ORAL	EF239-00
ZIDOVUDINA E LAMIVUDINA COMPRIMIDOS	EF240-00

ACETATO DE CÁLCIO

Calcii acetas



$C_4H_6CaO_4$; 158,17
acetato de cálcio; 09629
Sal de cálcio do ácido acético (1:2)
[*62-54-4*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_4H_6CaO_4$ em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, isento de odor, higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon acetato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 7,2 a 8,2. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Bário. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2).** Utilizar espectrofotômetro provido de lâmpada de catodo oco de bário e selecionar a linha de emissão em 455,4 nm.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 5 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: preparar a solução de referência utilizando solução padrão de bário (0,1% Ba), diluída com água.

Procedimento: calcular o teor de bário na amostra a partir das leituras obtidas. No máximo 0,005% (50 ppm).

Estrôncio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1),** utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de magnésio e selecionar a linha de emissão em 460,7 nm.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.

Procedimento: calcular o teor de estrôncio na amostra a partir das leituras obtidas. No máximo 0,05% (500 ppm).

Fluoreto. Determinar a concentração do íon fluoreto potenciometricamente. Utilizar eletrodo seletivo para o íon fluoreto. Preparar e armazenar todas as soluções em recipientes de plástico.
Solução tampão: transferir para um balão volumétrico de 250 mL, 73,5 g de citrato de sódio di-hidratado. Completar o volume com água. Homogeneizar.

Solução amostra: transferir 2 g da amostra para um béquer, adicionar 20 mL de água e 2 mL de ácido clorídrico, manter sob agitação até a completa dissolução da amostra. Adicionar 50 mL da *Solução tampão* e completar com água até 100 mL.

Solução padrão: dissolver em água quantidade, pesada com exatidão, de fluoreto de sódio SQR para obtenção de uma solução contendo 1,1052 mg/mL. Transferir 20 mL dessa solução para um balão volumétrico de 100 mL contendo 50 mL da *Solução tampão*. Completar volume com água e homogeneizar, obtendo solução a 100 µg/mL de íon fluoreto. A partir dessa solução, transferir para sucessivos balões volumétricos de 100 mL contendo, cada um, 50 mL da *Solução tampão* e 2 mL de ácido clorídrico, 100 µL, 200 µL, 300 µL e 500 µL da *Solução padrão*. Completar o volume com água, transferir cada solução para diferentes béqueres e proceder às leituras potenciométricas a fim de construir a curva analítica.

Procedimento: proceder às leituras potenciométricas e calcular a quantidade de fluoreto a partir das leituras obtidas. No máximo 0,005% (50 ppm).

Magnésio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de magnésio e selecionar a linha de emissão em 285,2 nm.

Solução amostra: preparar uma solução com 200 mg da amostra em 100 mL de água.

Procedimento: calcular o teor de magnésio na amostra a partir das leituras obtidas. No máximo 0,05% (500 ppm).

Nitrato. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água e adicionar 5 mg de cloreto de sódio, 0,05 mL de índigo carmim SR e, sob agitação, 10 mL de ácido sulfúrico isento de nitrogênio. Uma coloração azul intensa persiste por, no mínimo, 10 minutos.

Potássio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de magnésio e selecionar a linha de emissão em 766,7 nm.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1,25 g da amostra e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.
Procedimento: calcular o teor de potássio na amostra a partir das leituras obtidas. No máximo 0,05% (500 ppm).

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de magnésio e selecionar a linha de emissão em 589 nm.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.

Procedimento: calcular o teor de sódio na amostra a partir das leituras obtidas. No máximo 0,05% (500 ppm).

Alumínio (5.3.2.10). Dissolver 4 g da amostra em 100 mL de água e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio*. No máximo 0,0001% (1 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I* . Pesar 1,5 g da amostra e proceder conforme *Ensaio limite para arsênio*. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Chumbo (5.3.2.12). No máximo 0,001% (10 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo 0,0354% (354 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água, adicionar 6 mL de ácido clorídrico 3 *M* e completar o volume para25 mL utilizando água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 2 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,06% (600 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo 7,0%.

Substâncias facilmente oxidáveis. Dissolver 2 g da amostra em 10 mL de água em ebulição. Adicionar algumas pérolas de vidro, 6 mL de ácido sulfúrico 5 *M* e 0,3 mL de permanganato de potássio SR. Misturar, aquecer a ebulição durante cinco minutos. Deixar em repouso até que todo precipitado tenha decantado. Uma coloração rosa permanece na solução sobrenadante.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 300 mg da amostra e dissolver em 150 mL de água, contendo 2 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Manter sob agitação e adicionar cerca de 30 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV a partir de uma bureta de 50 mL. Adicionar 15 mL de hidróxido de sódio *M* e 300 mg de azul de hidroxinaftol. Continuar a titulação até o ponto final, de coloração azul. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 7,909 mg de $C_4H_6CaO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

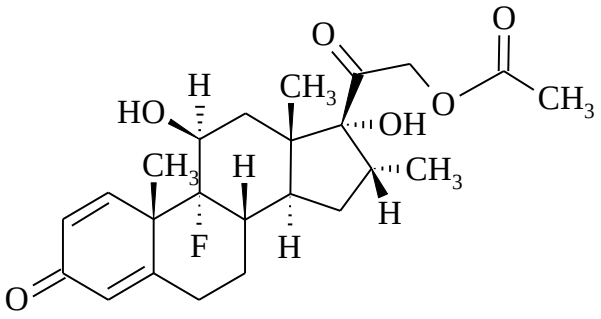
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adjuvante farmacêutico utilizado em soluções para diálise.

ACETATO DE DEXAMETASONA

Dexamethasoni acetas



$C_{24}H_{31}FO_6$; 434,50
acetato de dexametasona; 02819
(11*β*, 16*α*)-9-fluor-11,17-diidroxi-16-metil-3,20-dioxopregna-1,4-dieno-21-il acetato
[*1177-87-3*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{24}H_{31}FO_6$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em dioxano, álcool etílico e em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +82 a +88, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetato de dexametasona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução amostra a 15 µg/mL em álcool metílico, há máximos e mínimos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda daqueles observados no espectro de solução similar de acetato de dexametasona SQR. As absortividades, calculadas no comprimento de onda de absorvância máxima em torno de 239 nm, não diferem mais que 3% para as soluções amostra e padrão.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250

mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo fenila (4 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão formato pH 3,6: transferir 1,32 g de formato de amônio para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 900 mL de água e homogeneizar. Ajustar o pH para 3,6 com ácido fórmico e completar o volume com o mesmo solvente.

Fase móvel: mistura de *Tampão formato pH 3,6* e acetonitrila (3:2). Fazer ajustes se necessário.

Solução teste: transferir, quantitativamente, cerca de 200 mg de acetato de dexametasona para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em acetonitrila, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 40 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, diluir com *Tampão formato pH 3,6* para 100 mL e homogeneizar.

Procedimento: injetar 10 μL da *Solução teste*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos obtidos. A eficiência da coluna deve ser, no mínimo, 5400 pratos teóricos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico principal, é, no máximo, 2,0% da área total sob os picos obtidos, incluindo a do pico principal. Nenhuma impureza individual obtida com a *Solução teste* poderá ser superior a 1,0%, comparada à área total sob os picos obtidos.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa, sob pressão reduzida, a 105 ºC, por três horas. No máximo 0,4%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (10 μm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Solução tampão pH 6,0: transferir 3 mL de solução de hidróxido de sódio *M*, 138 mL de cloreto de potássio 0,5 *M* e 50 mL de fosfato de potássio monobásico 0,5 *M* para balão volumétrico de 1000 mL. Diluir com água para 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (55:45). Fazer ajustes se necessário.

Diluente: mistura de acetonitrila e *Solução tampão pH 6,0* (1:1).

Solução amostra:pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 250 mL. Adicionar 100 mL do *Diluente* e deixar em banho de ultrassom até obter uma solução límpida. Completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução padrão:pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de acetato de dexametasona SQR, transferir para balão volumétrico de 250 mL e solubilizar com o *Diluente*. Completar o volume com*Diluente* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* A eficiência da coluna deve ser, no mínimo, 1500 pratos teóricos. O fator de retenção deve ser menor do que 2,0. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{24}H_{31}FO_6$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz. Armazenar entre 15 ºC e 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

ACETATO DE DEXAMETASONA CREME

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{24}H_{31}FO_6$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

P**esquisa 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 240 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 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto**.**

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (65:35).

Solução amostra: transferir quantidade da amostra, pesada com exatidão, equivalente a 2 mg de acetato de dexametasona. Adicionar 40 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom, agitando com bastão de vidro, até dissolver. Tranferir quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 20 mg de acetato de dexametasona SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom para dissolver. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{24}H_{31}FO_6$ no creme, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

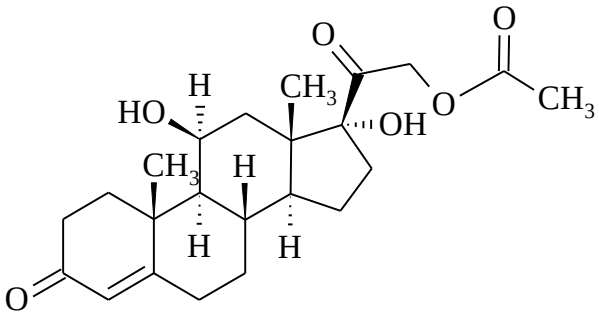
Em recipientes bem fechados e ao abrigo do calor excessivo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ACETATO DE HIDROCORTISONA

Hydrocortisoni acetas



$C_{23}H_{32}O_6$; 404,50
acetato de hidrocortisona; 04666
Acetato de 11β,17-dihidroxi-3,20-dioxopregn-4-eno-21-il
[*50-03-3*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{23}H_{32}O_6$, em relação àsubstância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino de coloração branca. *Ponto de fusão* **(5.2.2)**: em torno de 220 ºC, com decomposição.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico absoluto.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +158 a +167, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 10 mg/mL em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dispersa em brometo de potássio há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetato de hidrocortisona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel GF_{254} como suporte, e mistura de cloreto de metileno, éter, álcool metílico e água (73:15:10:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução teste: dissolver 10 mg da amostra em álcool metílico:cloreto de metileno (1:9) e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (1): dissolver 20 mg de acetato de hidrocortisona SQR em álcool metílico:cloreto de metileno (1:9) e completar o volume para 20 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): dissolver 10 mg de acetato de cortisona em *Solução (1)* e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução teste* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (1)*. Nebulizar a placa com solução alcoólica de ácido sulfúrico SR. Aquecer a 120 ºC durante 10 minutos ou até o aparecimento de manchas e deixar esfriar. A mancha principal obtida com a *Solução teste*, corresponde em posição, cor e dimensões, à mancha principal obtida com a *Solução (1)* quando examinada à luz do dia e sob luz ultravioleta (365 nm). O cromatograma da *Solução (2)* demonstra duas manchas claramente separadas.

C. Adicionar cerca de 2 mg de amostra em 2 mL de ácido sulfúrico e agitar até completa dissolução. Aguardar cinco minutos. Desenvolver-se-á uma intensa coloração castanho-avermelhada com fluorescência verde que é principalmente intensa quando visualizada em luz ultravioleta (365 nm). Adicionar a essa solução 10 mL de água e homogeneizar. A coloração enfraquece e a fluorescência sob luz ultravioleta permanece.

D. Satisfaz às reações do grupo acetila **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (40:60).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de amostra e transferir para balão volumétrico de 10 mL. Dissolver, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 2 mg de acetato de hidrocortisona SQR e 2 mg de acetato de cortisona. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Pipetar 1 mL dessa solução, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar 20 µL da *Solução padrão*. A resolução entre os picos de acetato de hidrocortisona e acetato de cortisona é, no mínimo, 4,2.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o percentual de cada impureza na amostra. Para qualquer impureza individual, no máximo, 1,0% da área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão* e, no máximo, um pico com área maior que 0,5% da área sob o pico principal obtido na *Solução padrão.* Para o total de impurezas encontradas, no máximo, 1,5% da área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão*. Ignorar picos com área menor que 0,05% da área sob o pico principal obtido na *Solução padrão*.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e dissolver em álcool etílico. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em álcool etílico, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 241 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{23}H_{32}O_6$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

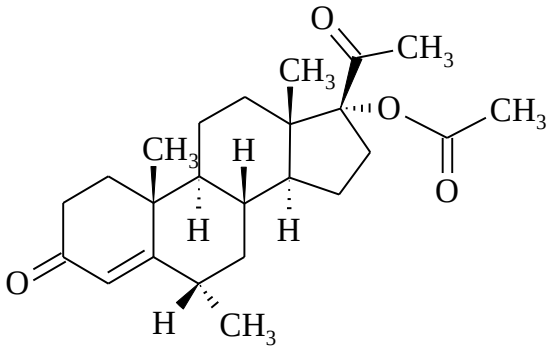
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Corticosteroide.

ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA

Medroxyprogesteroni acetas



$C_{24}H_{34}O_4$; 386,53
acetato de medroxiprogesterona; 05563
Acetato de 6-metil-3,20-dioxopregn-4-eno-17-il
[*71-58-9*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{24}H_{34}O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca a quase branca.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em dioxano e ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +45 a +51. Determinar em solução a 1% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetato de medroxiprogesterona SQR, preparado de maneira idêntica. Não é necessário dessecar a amostra.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 241 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de acetato de medroxiprogesterona SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (3:2). Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 62,5 g de acetato de medroxiprogesterona e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de acetato de medroxiprogesterona SQR na *Fase móvel* e diluir, adequadamente, de modo a obter solução a 50 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver adequadamente, quantidade de acetato de megestrol e de acetato de medroxiprogesterona SQR em *Fase móvel* para obter solução a 40 µg/mL para ambos.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de acetato de megestrol e acetato de medroxiprogesterona é, no mínimo, 1,5. Injetar replicatas da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o percentual de cada impureza presente na amostra. No máximo 1,0% de qualquer impureza individual. No máximo 1,5% do total de impurezas encontradas. Ignorar picos com área menor que 0,05% do pico principal obtido com a *Solução padrão*.

Limite de acetato de medroxiprogesterona composto relacionado A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de hexano, éter metil *terc*-butílico, tetraidrofurano (45:45:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em cloreto de metileno, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): dissolver 0,2 g de acetato de medroxiprogesterona SQR e 1 mg de acetato de medroxiprogesterona composto relacionado A SQR em cloreto de metileno e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e desenvolver o cromatograma novamente. Remover a placa, deixar secar em estufa a 120 ºC por 10 minutos. Nebulizar a placa com uma solução alcoólica de ácido p-tolueno sulfônico 0,02 g/mL. Aquecer a placa a 120 ºC por 10 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Qualquer mancha fluorescente azul com valor de Rf maior que a mancha principal de acetato de medroxiprogesterona obtida a partir da *Solução (1),* tem intensidade máxima igual a mancha obtida com valor de Rf correspondente obtida na *Solução (2)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por três horas. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (60:40).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 30 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de acetato de medroxiprogesterona SQR na *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 100 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%. O fator de cauda é, no máximo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{24}H_{34}O_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente opaco, hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

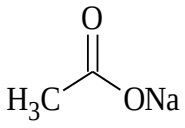
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Progestágeno.

ACETATO DE SÓDIO

Natrii acetas



$C_2H_3NaO_2$; 82,03
acetato de sódio; 00087
Sal de sódio do ácido acético (1:1)
[*127-09-3*]

$C_2H_3NaO_2.3H_2O$; 136,08
acetato de sódio tri-hidratado; 00088
Sal de sódio do ácido acético hidratado (1:1:3)
[*6131-90-4*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_2H_3NaO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais incolores, transparentes, ou pó cristalino branco, granular, ou flocos brancos. Efloresce ao ar quente e seco.

Solubilidade. Muito solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon acetato **(5.3.1.1).**

B. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1).**

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). Preparar uma solução que contenha 5% (p/v) de $C_2H_3NaO_2$ e proceder conforme descrito em *Determinação do pH*. Entre 7,5 e 9,2.

Matéria insolúvel. Dissolver o equivalente a 20 g de acetato de sódio anidro em 150 mL de água. Preparar essa solução em um béquer e aquecer até ebulição. Cobrir o béquer com vidro de relógio e deixá-lo em banho-maria por uma hora. Filtrar em um filtro previamente pesado, lavar e secar a 105 ºC até peso constante. No máximo 0,05% (500 ppm).

Cálcio e magnésio. Pesar o equivalente a 0,2 g de acetato de sódio anidro e dissolver em 20 mL de água. Adicionar 2 mL de cada um dos seguintes reagentes: hidróxido de amônio 6 *M*, oxalato de amônio SR e fosfato de sódio dibásico a 12% (p/v). Nenhuma turbidez é desenvolvida durante cinco minutos.

Potássio. Pesar o equivalente a 3 g de acetato de sódio anidro e dissolver em 5 mL de água. Acidificar a solução com algumas gotas de ácido acético *M* e adicionar cinco gotas de cobaltinitrito de sódio SR. Nenhum precipitado é formado.

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver o equivalente a 1 g de acetato de sódio anidro em 35 mL de água e proceder conforme *Ensaio limite para arsênio*. No máximo 0,0003% (3 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). O equivalente a 1 g de acetato de sódio anidro não apresenta mais cloretos que o equivalente a 1,0 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* SV. No máximo 0,035% (350 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Proceder conforme descrito em *Método I* utilizando 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Utilizar 0,2 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver o equivalente a 2 g de acetato de sódio anidro em balão volumétrico de 25 mL utilizando água como solvente e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*, utilizando 2 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). O equivalente a 10 g de acetato de sódio anidro não apresenta mais sulfatos que o equivalente a 1 mL de ácido sulfúrico padrão (H_2SO_4 0,005 *M* SV). No máximo 0,005% (50 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. A forma hidratada perde de 38% a 41% do seu peso; a forma anidra perde no máximo 1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar quantidade equivalente a 0,2 g de acetato de sódio previamente dessecado e dissolver em 25 mL de ácido acético glacial, aquecer se necessário para completa solubilização. Adicionar duas gotas de 1-naftolbenzeína SI. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 8,203 mg de $C_2H_3NaO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

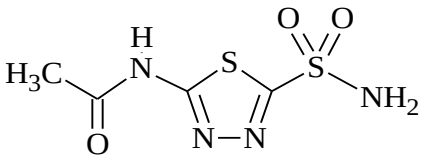
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacêutico utilizado em soluções para diálise.

ACETAZOLAMIDA

Acetazolamidum



$C_4H_6N_4O_3S_2$; 222,25
acetazolamida; 00063
N-[5-(Aminossulfonil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]acetamida
[*59-66-5*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_4H_6N_4O_3S_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetazolamida SQR, preparado de maneira idêntica. Caso o espectro da amostra não se apresente idêntico ao do padrão, dissolver, separadamente, a amostra e o padrão em álcool etílico, evaporar até secura e repetir o teste com os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 260 nm, de solução a 0,003% (p/v) em hidróxido de sódio 0,01 *M*, há máximo em 240 nm e a absorvância é de 0,49 a 0,52. No espectro de absorção no ultravioleta, na faixa de 260 nm a 350 nm, de solução a 0,00075% (p/v) em hidróxido de sódio 0,01 *M*, há máximo em 292 nm e a absorvância é de 0,43 a 0,46.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de hidróxido de sódio *M*. A preparação obtida não é mais opalescente que a *Suspensão de referência II* **(5.2.25)** e não é mais intensamente corada que a *Solução de referência de cor* **(5.2.12)**, preparada como descrito a seguir.

Solução de referência de cor: misturar 4,8 mL de *Solução base de cloreto férrico*, 1,2 mL de *Solução base de cloreto de cobalto II* e 14 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v). Diluir 12,5 mL dessa solução com 87,5 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de amônia, acetato de etila e álcool isopropílico (20:30:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 5 mg/mL da amostra em mistura de álcool etílico e acetato de etila (1:1).

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL, com mistura de álcool etílico e acetato de etila (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária do cromatograma obtido com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 0,96 g da amostra em 20 mL de água, aquecer à ebulição até completa dissolução. Resfriar com agitação e filtrar. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para sulfatos*, utilizando 1 mL de ácido sulfúrico padrão (H_2SO_4 0,005 *M* SV). No máximo 0,05% (500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa, entre 100 ºC e 105 ºC. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,2 g da amostra em 25 mL de dimetilformamida. Titular com hidróxido de sódio etanólico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio etanólico 0,1 *M* SV equivale a 22,225 mg de $C_4H_6N_4O_3S_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz.

ROTULAGEM

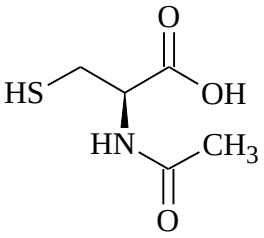
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

ACETILCISTEÍNA

Acetylcysteinum



$C_5H_9NO_3S$; 163,19
acetilcisteína; 00067
N-Acetil-L-cisteína
[*616-91-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_5H_9NO_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase incolor.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 104 ºC a 110 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +21 a +27, em relação à substância dessecada. Em balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1,25 g da amostra, 1 mL de edetato dissódico a 1% (p/v), 3,75 mL de hidróxido de sódio SR e homogeneizar. Completar o volume com tampão fosfato pH 7,0.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetilcisteína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver cerca de 1 g da amostra em 20 mL de água e adicionar 0,05 mL de nitroprusseto de sódio 5% (p/v) e 0,05 mL de hidróxido de amônio. Desenvolve-se coloração violeta-escura.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação da amostra a 5% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 2,0 a 2,8. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Metais pesados (5.3.2.3). Umedecer 2 g da amostra, cuidadosamente, gota a gota, com 2 mL de ácido nítrico e prosseguir conforme descrito no *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra, em estufa a 70 ºC, sob pressão reduzida, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2 g da amostra. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de de 0,14 g da amostra, diluir em 60 mL de água e adicionar 10 mL de ácido clorídrico 2 *M*. Resfriar em banho de gelo, adicionar 10 mL de iodeto de potássio SR e titular com iodo 0,05 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente ou utilizando 1 mL de amido SI como indicador. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 16,319 mg de $C_5H_9NO_3S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água. Filtrar e ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico.

Solução de padrão interno: transferir, aproximadamente, 1 g de DL-fenilalanina para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com metabissulfito sódico 0,05% (p/v), recentemente preparado. Homogeneizar.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com metabissulfito sódico 0,05% (p/v) e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com metabissulfito sódico 0,05% (p/v).

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g de acetilcisteína SQR para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com metabissulfito sódico 0,05% (p/v). Transferir 5 mL dessa solução e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com metabissulfito sódico 0,05% (p/v), obtendo solução a 0,5 mg/mL de acetilcisteína SQR e 0,25 mg/mL de DL-fenilalanina.

Injetar replicatas de 5 µL da *Solução padrão*. A resolução entre os picos correspondentes à acetilcisteína e à DL-fenilalanina é, no mínimo, 6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à acetilcisteína e à DL-fenilalanina. Calcular o teor de $C_5H_9NO_3S$ na amostra, a partir das respostas obtidas para a relação acetilcisteína/DL-fenilalanina, com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

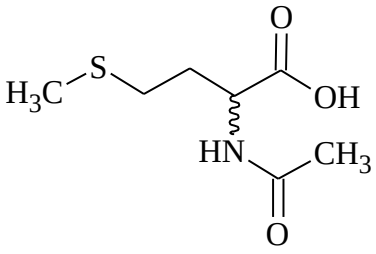
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Mucolítico.

ACETILRACEMETIONINA

Acetylmethioninum



$C_7H_{13}NO_3S$; 191,25
acetilracemetionina; 11029
N-Acetil-DL-metionina
[1115-47-5]

Contém, no mínimo, 98,0% de $C_7H_{13}NO_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Solúvel em água e em álcool etílico em ebulição.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 114 ºC a 116 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8).** -0,05 a +0,05. Dissolver 1,00 g da amostra em ácido clorídrico 25% (p/v) e completar o volume até 50 mL.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetilracemetionina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 10 mg da amostra em 1 mL de água destilada e adicionar, sucessivamente, sob agitação, 1 mL de hidróxido de sódio 5 *M*, 1 mL de glicerol e 0,3 mL de nitroprusseto de sódio 5% (p/v). Aquecer entre 35 ºC e 40 ºC, durante 10 minutos, e resfriar em banho de gelo, durante dois minutos. Adicionar 1,5 mL de ácido clorídrico SR e agitar. Desenvolve-se coloração vermelho-púrpura.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,2 g da amostra em 2 mL de água destilada. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)**. Adicionar 38 mL de água destilada e reservar esta solução para os demais ensaios.

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,005% (50 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra e transferir para um erlenmeyer com tampa. Adicionar 100 mL de água, 5 g de fosfato de potássio dibásico, 2 g de fosfato de potássio monobásico e 2 g de iodeto de potássio. Agitar até dissolução completa. Adicionar 50 mL de iodo 0,05 *M* SV, agitar e deixar em repouso por 30 minutos. Titular o excesso de iodo com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, adicionar 3 mL de amido SI próximo ao ponto final, e prosseguir a titulação até o desaparecimento da cor azul. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 9,562 mg de $C_7H_{13}NO_3S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

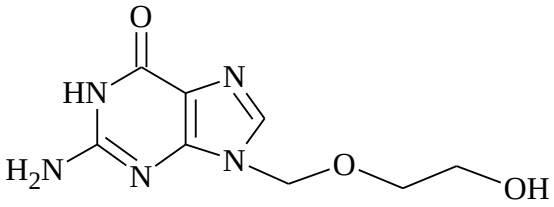
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Lipotrópico.

ACICLOVIR

Aciclovirum



$C_8H_{11}N_5O_3$; 225,21
aciclovir; 00082
2-Amino-1,9-di-hidro-9-[(2-hidroxietoxi)metil]-6*H*-purin-6-ona
[*59277-89-3*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_8H_{11}N_5O_3$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em dimetilsulfóxido e muito pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais e hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de aciclovir SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, de solução a 0,0015% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em 255 nm e um ombro inclinado em torno de 274 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de aciclovir SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e hidróxido de amônio (80:20:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL, dissolver em dimetilsulfóxido e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 10 mg/mL.

Solução (2): solução de aciclovir SQR a 0,2 mg/mL em dimetilsulfóxido.

Solução (3): solução de aciclovir SQR a 0,1 mg/mL em dimetilsulfóxido.

Solução (4): solução de aciclovir SQR a 0,05 mg/mL em dimetilsulfóxido.

Solução (5): solução de aciclovir SQR a 0,01 mg/mL em dimetilsulfóxido.

Procedimento: desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar as manchas com corrente de ar seco. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquelas obtidas com a *Solução (2)*, *Solução (3)*, *Solução (4)* e *Solução (5)*. A soma das impurezas observadas deve ser, no máximo 2,0%.

Limite de guanina. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Calcular o teor de guanina na amostra, a partir das respostas obtidas para o pico relativo à guanina na *Solução padrão* e na *Solução amostra*. No máximo 0,7%.

Água (5.2.20.1). No máximo 6,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,15 g da amostra em 60 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 22,52 mg de $C_8H_{11}N_5O_3$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm a 10 μm); fluxo da *Fase móvel* de 3,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e ácido acético glacial (100:0,1).

Solução de guanina: pesar, com exatidão, cerca de 8,75 mg de guanina, transferir para balão volumétrico de 500 mL e dissolver em 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 200 mL com auxílio de 20 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Adicionar 80 mL de água, deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com hidróxido de sódio 0,01 *M* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de aciclovir SQR para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em 5 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 10 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 2 mL da *Solução de guanina*, completar o volume com hidróxido de sódio 0,01 *M* e homogeneizar, de modo a obter concentração de 0,1 mg/mL de aciclovir SQR e 0,7 µg/mL de guanina.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,2 para a guanina e 1 para o aciclovir. O fator de cauda para os picos analisados é, no máximo, 2,0. A resolução entre o aciclovir e a guanina é, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL, da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_8H_{11}N_5O_3$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, em temperatura inferior à 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiviral.

ACICLOVIR COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 255 nm e um ombro inclinado em torno de 274 nm.

B. Proceder conforme descrito em *Limite de guanina*. A mancha principal obtida com a *Solução (2)* corresponde em posição, cor e intensidade à mancha obtida com a *Solução (3)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pá, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 255 nm **(5.2.14)** utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}N_5O_3$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de aciclovir SQR na concentração de 0,001% (p/v). Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 560, em 255 nm, em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio 13,5 *M*, álcool metílico e cloreto de metileno (2:20:80), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar, por 15 minutos, quantidade do pó equivalente a 0,25 g de aciclovir com 10 mL de dimetilsulfóxido. Filtrar.

Solução (2): diluir 0,7 volumes de *Solução (1)* para 100 volumes com dimetilsulfóxido.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,7%).

Limite de guanina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando celulose F_{254}, como suporte, e mistura de álcool *n*-propílico, hidróxido de amônio 13,5 *M* e sulfato de amônio a 5% (p/v) (10:30:60), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,25 g de aciclovir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 25 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, agitar por 10 minutos e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Deixar decantar o material não dissolvido, antes da aplicação na placa.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Solução (3): dissolver 5 mg de aciclovir SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Solução (4): dissolver 5 mg de guanina em 100 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária, correspondente à guanina, obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (4)* (1,0%). Desprezar as manchas presentes no ponto de aplicação do solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de aciclovir para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 60 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos ou mais, se necessário, e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Homogeneizar e filtrar. Transferir 15 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de água, 5,8 mL de ácido clorídrico 2 *M* e completar o volume com água. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar, obtendo solução a 0,0015% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 255 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}N_5O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 560, em 255 nm, em ácido clorídrico 0,1 *M*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, em temperatura inferior à 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ACICLOVIR CREME

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 255 nm e um ombro inclinado em torno de 274 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de aciclovir SQR.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Limite de guanina*, corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de guanina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando celulose F_{254}, como suporte. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar quantidade de creme equivalente a 30 mg de aciclovir, transferir para tubo de centrífuga graduado, adicionar 3 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e agitar de modo a obter a dispersão do creme. Adicionar 5 mL de mistura de clorofórmio e álcool *n*-propílico (1:2), agitar, centrifugar e diluir a camada aquosa superior para 5 mL com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Homogeneizar.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Solução (3): dissolver 6 mg de aciclovir SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Solução (4): dissolver 6 mg de guanina em 100 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Desenvolver o cromatograma, inicialmente, utilizando acetato de etila como fase móvel e deixar percorrer por toda extensão da placa. Retirar a placa e deixar secar ao ar. Desenvolver novamente o cromatograma utilizando, como fase móvel, mistura de álcool *n*-propílico, hidróxido de amônio 13,5 *M* e sulfato de amônio a 5% (p/v) (10:30:60). Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária, correspondente à guanina, obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (4)* (1%). Desprezar as manchas presentes no ponto de aplicação do solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir quantidade de amostra equivalente a 7,5 mg de aciclovir para funil de separação com auxílio de 50 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M* e agitar. Adicionar 50 mL de acetato de etila, agitar, esperar a separação das fases e coletar a fase aquosa inferior. Lavar a fase orgânica com 20 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M*, coletar a fase aquosa e juntar ao combinado anterior. Transferir os combinados aquosos para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido sulfúrico 0,5 *M*. Homogeneizar e filtrar, descartando os primeiros mililitros do filtrado. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água. Preparar solução de aciclovir SQR na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 255 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido sulfúrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}N_5O_3$ no creme, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

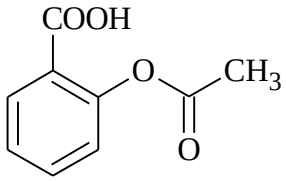
Em recipientes bem fechados, em local seco e temperatura entre 15 ºC e 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Acidum acetylsalicylicum



$C_9H_8O_4$; 180,16
ácido acetilsalicílico; 00089
Ácido 2-(acetiloxi)benzoico
[*50-78-2*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 101,0% de $C_9H_8O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores. Ponto de fusão **(5.2.2)**: em torno de 143 °C.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, muito solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido acetilsalicílico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Misturar pequena quantidade da amostra com água, aquecer por alguns minutos. Resfriar. Adicionar uma ou duas gotas de cloreto férrico SR. Desenvolve-se coloração vermelho-violeta.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 9 mL de álcool etílico. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 237 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 1,0 mL/minuto. Preparar as soluções descritas a seguir imediatamente antes do uso.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico, acetonitrila e água (2:400:600).

Solução amostra: dissolver 0,10 g da amostra em acetonitrila e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução padrão 1: dissolver 50,0 mg de ácido salicílico até o volume de 50 mL com *Fase móvel*. Diluir 1 mL dessa solução com *Fase móvel* até 100 mL.

Solução padrão 2: dissolver 10,0 mg de ácido salicílico até o volume de 10 mL com *Fase móvel*. Diluir 1 mL dessa solução com 0,2 mL da *Solução amostra* até 100 mL com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão 2*. A resolução entre ácido acetilsalicílico e ácido salicílico é, no mínimo, 6,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão 1* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas durante sete vezes o tempo de retenção do ácido salicílico e medir as áreas sob os picos. Desconsiderar os picos com área inferior a 0,25 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão 1*.
Qualquer pico secundário obtido com a *Solução amostra* deve ser menor que o pico principal obtido com a *Solução padrão 1* (0,1%). A soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução amostra* deve ser menor que 2,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão 1* (0,25%).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em acetona, completar o volume para 25 mL com o mesmo solvente e adicionar 2 mL de água. Adicionar 1,2 mL de tioacetamida SR e 2 mL de tampão acetato pH 3,5. Homogeneizar e deixar em repouso por cinco minutos. Qualquer coloração desenvolvida não é mais escura do que a do padrão, preparado com 25 mL de acetona, 2 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*, 1,2 mL de tioacetamida SR e 2 mL de tampão acetato pH 3,5. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em dessecador contendo sílica-gel, à temperatura ambiente, sob pressão reduzida, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL com tampa e dissolver em 10 mL de álcool etílico. Adicionar 50 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* SV. Deixar em repouso por uma hora. Adicionar 0,2 mL de fenolftaleína SI como indicador e titular com ácido clorídrico 0,5 *M* SV. Realizar ensaio em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* SV equivale a 45,040 mg de $C_9H_8O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico; antipirético; anti-inflamatório não-esteroide; antiagregante plaquetário; utilizado também para alívio da enxaqueca e em cardiopatia isquêmica.

ÁCIDO ACETILSALICÍLICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_9H_8O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,5 g de ácido acetilsalicílico para tubo de centrífuga e agitar com 10 mL de álcool etílico por alguns minutos. Centrifugar. Remover o sobrenadante límpido e evaporar à secura em banho-maria a 60 ºC, por uma hora. Secar o resíduo em estufa a vácuo a 60 ºC, por uma hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido acetilsalicílico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,5 g de ácido acetilsalicílico e dissolver em 10 mL de hidróxido de sódio 5 *M*. Ferver por dois ou três minutos. Esfriar. Adicionar um excesso de ácido sulfúrico *M*. Produz-se precipitado cristalino e odor característico de ácido acético. Adicionar cloreto férrico SR à solução. Desenvolve-se coloração violeta intensa.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, cinco minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Para comprimidos de 100 mg, proceder conforme descrito em *Doseamento*, empregando soluções volumétricas a 0,1 *M*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão acetato 0,05 *M* pH 4,5, 500 Ml.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e, se necessário, diluir em tampão acetato 0,05 *M* pH 4,5 até concentração adequada. Medir imediatamente as absorvâncias das soluções em 265 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_9H_8O_4$ dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de ácido acetilsalicílico SQR na concentração de 0,008% (p/v), preparada no momento do uso. Pode-se usar álcool etílico para dissolver o padrão antes da diluição em tampão acetato 0,05 *M* pH 4,5. O volume de álcool etílico não pode exceder 1% do volume total da solução padrão.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_9H_8O_4$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Ácido salicílico. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,2 g de ácido acetilsalicílico para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 4 mL de álcool etílico e agitar. Completar o volume para 100 mL com água resfriada, mantendo a temperatura inferior a 10 ºC. Filtrar imediatamente e transferir 50 mL do filtrado para tubo de Nessler. Preparar a solução de ácido salicílico SQR a 0,01% (p/v). Transferir 3 mL dessa solução para um tubo de Nessler, adicionar 2 mL de álcool etílico e água em quantidade suficiente para 50 mL. Adicionar 1 mL de sulfato férrico amoniacal SR2 às soluções padrão e amostra. A cor violeta produzida com a solução amostra não deve ser mais intensa que a obtida com a solução padrão.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,5 g de ácido acetilsalicílico para erlenmeyer de 250 mL e adicionar 30 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* SV. Ferver, cuidadosamente, por 10 minutos e titular o excesso de hidróxido de sódio 0,5 *M* SV com ácido clorídrico 0,5 *M* SV, utilizando vermelho de fenol SI como indicador. Realizar ensaio em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* SV equivale a 45,040 mg de $C_9H_8O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

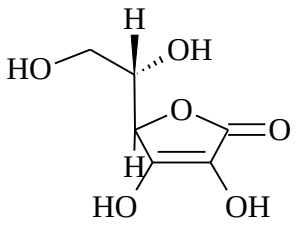
Em recipientes perfeitamente fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁCIDO ASCÓRBICO

Acidum ascorbicum



$C_6H_8O_6$; 176,12
ácido ascórbico; 00104
Ácido L-ascórbico
[*50-81-7*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_6H_8O_6$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, cristalino branco, ou ligeiramente amarelado. No estado sólido é estável ao ar, mas em solução oxida-se rapidamente. Sua preparação aquosa é límpida.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 189 ºC a 192 ºC, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +20,5 a +21,5, determinado em solução a 10% (p/v), em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido ascórbico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A uma alíquota da solução a 2% (p/v) adicionar tartarato cúprico alcalino SR e deixar em repouso à temperatura ambiente. Observa-se mudança de coloração, devido à redução lenta do tartarato cúprico. Sob aquecimento a redução é mais rápida.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,2 a 2,5. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1 g em 25 mL de água. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em dessecador a vácuo, sob atmosfera de ácido sulfúrico, por 24 horas. No máximo 0,4%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra e dissolver em uma mistura de 100 mL de água e 25 mL de ácido sulfúrico *M*. Adicionar 3 mL de amido SI e titular imediatamente com iodo 0,05 *M* SV. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 8,806 mg de $C_6H_8O_6$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina.

ÁCIDO ASCÓRBICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_8O_6$.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar e pulverizar os comprimidos. A partir do pó, preparar solução a 2% (p/v) de ácido ascórbico em álcool etílico, homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito nos testes **A.** e **B.** de *Identificação* na monografia de *Ácido ascórbico*, utilizando 2 mL da solução obtida.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com água para obter solução a 0,5 mg/mL de ácido ascórbico. Transferir volume equivalente a cerca de 2 mg de ácido ascórbico para erlenmeyer de 50 mL, adicionar 5 mL de ácido metafosfórico-acético SR e titular com solução padrão de diclorofenol-indofenol, até coloração rosa, persistente por 5 segundos. Realizar ensaio em branco com a mistura de 5,5 mL de ácido metafosfórico-acético SR e 15 mL de água. Calcular a quantidade de $C_6H_8O_6$ dissolvida, a partir do título da solução padrão de diclorofenol-indofenol.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_6H_8O_6$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 0,2 g de ácido ascórbico. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Ácido ascórbico*.

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Utilizar quantidade de pó equivalente a 0,15 g de ácido ascórbico. Dissolver em mistura de 30 mL de água e 20 mL de ácido sulfúrico *M*. Titular com sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV, utilizando ferroína SI, como indicador. Cada mL de sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV equivale a 8,806 mg de $C_6H_8O_6$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos e opacos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁCIDO ASCÓRBICO SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_8O_6$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool etílico e água (120:20), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): diluir a solução injetável em água, de modo a obter solução de ácido ascórbico a 5 mg/mL.

Solução (2): solução aquosa a 5 mg/mL de ácido ascórbico SQR.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. Diluir a solução injetável em álcool etílico, até concentração de 2% (p/v) e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ácido ascórbico*.

C. Transferir volume da solução injetável equivalente a 50 mg de ácido ascórbico para tubo de ensaio. Adicionar 0,2 mL de ácido nítrico 2 *M* e 0,2 mL de nitrato de prata 0,1 *M*. Produz-se precipitado cinza.

D. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,1 a 7,1.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de oxalato. Diluir volume da solução injetável equivalente a 50 mg de ácido ascórbico com água para 5 mL. Adicionar 0,2 mL de ácido acético glacial e 0,5 mL de cloreto de cálcio SR. Não se produz turvação no intervalo de um minuto.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 1,2 UE/mg de ácido ascórbico.

DOSEAMENTO

Transferir volume da solução injetável equivalente a cerca de 0,2 g de ácido ascórbico para erlenmeyer. Adicionar 100 mL de água isenta de dióxido de carbono e prosseguir conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Ácido ascórbico* a partir de "e 25 mL de ácido sulfúrico *M*...". Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 8,806 mg de $C_6H_8O_6$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

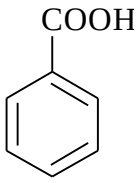
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁCIDO BENZOICO

Acidum benzoicum



$C_7H_6O_2$; 122,12
ácido benzoico; 00115
Ácido benzoico
[*65-85-0*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 100,5% de $C_7H_6O_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, cristalino ou cristais incolores.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em água em ebulição, facilmente solúvel em álcool etílico e ácidos graxos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 121 ºC a 124 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. Preparar uma solução saturada de ácido benzoico em água e filtrar duas vezes. A uma porção do filtrado, adicionar solução de cloreto férrico SR. Ocorre formação de um precipitado alaranjado. A uma outra porção de 10 mL do filtrado, adicionar 1 mL de ácido sulfúrico 3 *M* e resfriar a mistura. Ocorre a formação de um precipitado branco, solúvel em éter etílico, em aproximadamente 10 minutos.

B. Dissolver 5 g de amostra em 100 mL de álcool etílico. Satisfaz às reações do íon benzoato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g de amostra em 100 mL de álcool etílico. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)**.

Substâncias oxidáveis. Dissolver 2 g de amostra em 10 mL de água em ebulição, resfriar e filtrar. Adicionar, ao filtrado, 1 mL de ácido sulfúrico 5% (v/v) e 0,2 mL de permanganato de potássio 0,02 *M*. Forma-se coloração rosa persistente por, pelo menos, cinco minutos.

Substâncias carbonizáveis. Dissolver 0,5 g de amostra em 5 mL de ácido sulfúrico SR. Após cinco minutos, a solução não é mais intensamente colorida que a solução preparada pela diluição de 12,5 mL da *Solução de cor H* **(5.2.12)** para 100 mL com ácido clorídrico SR.

Compostos halogenados e haletos. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

***Nota**: toda a vidraria utilizada deve estar isenta de cloretos. Uma maneira de se conseguir isso é preencher a vidraria com uma solução de ácido nítrico a 50% (p/v) e deixá-la em repouso por pelo menos 12 horas ou no banho de ultrassom pelo tempo necessário. No dia seguinte, lavar a vidraria com água e guardá-la preenchida com água. É recomendado que se tenha uma vidraria reservada para a execução desse teste.*

Solução (1): dissolver 6,7 g de amostra em uma mistura de 40 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e 50 mL de álcool etílico e completar o volume para 100 mL com água. Em 10 mL dessa solução, adicionar 7,5 mL de solução de hidróxido de sódio SR, 0,125 g de liga de níquel-alumínio e aquecer em banho-maria por 10 minutos. Deixar esfriar à temperatura ambiente, filtrar e lavar com três porções, de 3 mL cada, de álcool etílico. Lavar com 25 mL de água.

Solução (2): preparar essa solução de maneira similar à *Solução (1),* porém, sem utilizar a amostra.

Solução (3): solução padrão de cloreto (8 ppm Cl).

Em quatro balões volumétricos de 25 mL, adicionar, separadamente, 10 mL da *Solução (1),* 10 mL da *Solução (2),* 10 mL da *Solução (3)* e 10 mL de água. A cada balão, adicionar 5 mL de sulfato férrico amoniacal SR1, 2 mL de ácido nítrico SR e 5 mL de tiocianato de mercúrio SR. Completar o volume de cada balão para 25 mL com água. Deixar em repouso em banho-maria a 20 ºC por 15 minutos. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Medir a absorvância da *Solução (1)* em 460 nm, utilizando a *Solução (2)* para ajuste do zero. Medir a absorvância da *Solução (3)* em 460 nm, utilizando água para ajuste do zero. A absorvância da *Solução (1)* não é maior do que a absorvância da *Solução (3)* (300 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método II*. Pesar 2 g de amostra, dissolver em álcool etílico e completar o volume para 25 mL. Preparar a solução padrão utilizando álcool etílico como solvente. No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Dissolver a amostra em uma mistura de álcool metílico e piridina (1:2). No máximo 0,7%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,05%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 200 mg da amostra e dissolver em 20 mL de álcool etílico. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando vermelho de fenol SI até formação de coloração violeta, correspondente ao ponto final da titulação. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 12,212 mg de $C_7H_6O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e opacos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA/CATEGORIA

Antimicrobiano; conservante

ÁCIDO BÓRICO
Acidum boricum

H_3BO_3; 61,83
ácido bórico; 00116
Ácido bórico
[*10043-35-3*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 100,5% de H_3BO_3, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco, untuoso ao tato, ou cristais brilhantes incolores.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em água em ebulição e glicerol a 85% (v/v), solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver, sob aquecimento brando, 0,1 g da amostra em 5 mL de álcool metílico. Adicionar 0,1 mL de ácido sulfúrico e levar a solução à ignição. Observa-se chama com bordas verdes.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 3,3 g da amostra em 80 mL de água em ebulição. Resfriar e diluir para 100 mL com água isenta de dióxido de carbono. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 3,8 a 4,8. Determinar na preparação obtida em *Aspecto da preparação*.

Solubilidade em álcool etílico. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de álcool etílico em ebulição. A preparação é incolor **(5.2.12)** e não mais opalescente que a *Suspensão referência II* **(5.2.25)**.

Impurezas orgânicas. Aquecer progressivamente a amostra ao rubro. Não ocorre escurecimento.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver 1 g da amostra em 23 mL de água, adicionar 2 mL de ácido acético *M* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados.* No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 2,7 g da amostra. No máximo 0,045% (450 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar sobre sílica-gel por cinco horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra e dissolver em 100 mL de água contendo 15 g de manitol, sob aquecimento. Titular com hidróxido de sódio *M* SV, utilizando 0,5 mL de fenolftaleína SI, como indicador, até viragem para rosa. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 61,832 mg de H_3BO_3.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

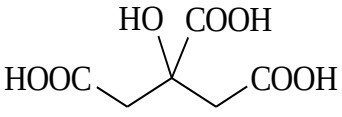
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Antisséptico e adjuvante farmacêutico.

ÁCIDO CÍTRICO
Acidum citricum



$C_6H_8O_7$; 192,12
ácido cítrico; 00134
Ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico
[*77-92-9*]

$C_6H_8O_7.H_2O$; 210,14
ácido cítrico monoidratado; 09852
Ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico hidratado (1:1)
[*5949-29-1*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 100,5% de $C_6H_8O_7$ em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Cristais incolores e translúcidos, ou pó cristalino, branco. Eflorescente ao ar quente e seco. A forma hidratada é ligeiramente deliquescente em ar úmido. Ponto de fusão **(5.2.2)**: aproximadamente 153 ºC, com decomposição.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 105 ºC por duas horas, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido cítrico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 1 g da substância em 10 mL de água. A solução é fortemente ácida.

C. Dissolver 0,5 g da substância em 5 mL de água e neutralizar com hidróxido de sódio *M*. Adicionar 10 mL de cloreto de cálcio SR e aquecer até ebulição. Um precipitado branco é formado.

D. Satisfaz às reações do íon citrato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 2 g da amostra em água e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias facilmente carbonizáveis. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,5 g da amostra pulverizada para um tubo de ensaio previamente lavado com ácido sulfúrico, contendo 5 mL de ácido sulfúrico. Aquecer durante uma hora a 90 ºC. A solução deve ficar somente amarela e não parda.

Ácido oxálico. Pesar o equivalente a 0,8 g de ácido cítrico e dissolver em 4 mL de água. Adicionar 3 mL de ácido clorídrico e 1 g de zinco granulado. Ferver por um minuto e esfriar por dois minutos.

Transferir o sobrenadante líquido para um tubo de ensaio contendo 0,25 mL de solução de cloridrato de fenilidrazina a 1% (p/v) e aquecer até ebulição. Resfriar rapidamente, transferir para um tubo graduado e adicionar igual volume de ácido clorídrico e 0,25 mL de ferricianeto de potássio SR. Agitar e deixar em repouso por 30 minutos. A cor rosa desenvolvida na solução não deve ser mais intensa do que a desenvolvida pelo padrão de ácido oxálico, preparado da mesma maneira, usando 4 mL de uma solução de ácido oxálico a 0,01% (p/v).

Alumínio (5.3.2.10). Pesar, com exatidão, cerca de 20 g da amostra e proceder conforme descrito em *Ensaio-limite para alumínio*, utilizando 40 mL da *Solução padrão de alumínio (2 ppm Al)*. No máximo 0,2 ppm (0,00002%), quando o ácido cítrico for usado em soluções para diálise.

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 3,2 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para sulfatos*, utilizando 1 mL da solução padrão de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra e dissolver em hidróxido de sódio SR. Diluir para 25 mL com água e proceder conforme descrito em *Ensaio-limite para metais pesados*. Após a adição do reagente tioacetamida e diluição com água, homogeneizar e aquecer a 80 ºC, deixando em seguida em repouso por dois minutos. No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Para a forma anidra, determinar em 2 g da amostra. No máximo 1%. Para a forma hidratada, determinar em 0,5 g da amostra. Entre 7,5 e 9,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Ácido cítrico destinado à produção de preparação parenteral cumpre com os seguintes testes.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de ácido cítrico anidro, se o produto acabado não for submetido a um procedimento posterior de remoção de endotoxinas bacterianas.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 50 mL de água, aquecendo brandamente, se necessário, até dissolução completa. Titular com hidróxido de sódio *M* SV, usando fenolftaleína SI como indicador. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 64,040 mg de $C_6H_8O_7$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

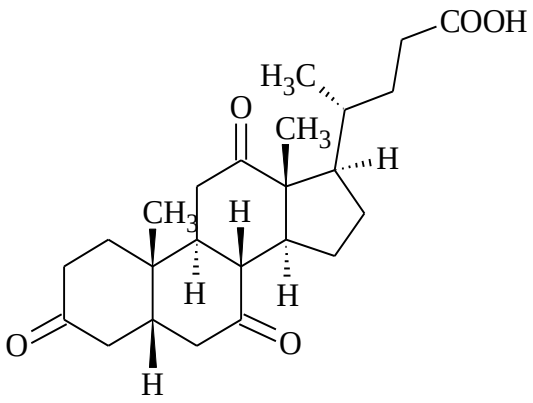
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Acidulante.

ÁCIDO DESIDROCÓLICO

Acidum dehydrocholicum



$C_{24}H_{34}O_5$; 402,53
ácido desidrocólico; 00157
Ácido (5*β*)-3,7,12-trioxocolan-24-oico
[*81-23-2*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{24}H_{34}O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, pouco solúvel em ácido acético glacial e álcool etílico. Solúvel em hidróxidos e carbonatos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 231 ºC a 240 ºC. A faixa entre o início e o fim da fusão não excede 3 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +29,0 a +32,5. Determinar em solução a 2% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido desidrocólico SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Bário. Dissolver 2 g da amostra em 100 mL de água e ferver por dois minutos. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico SR e ferver por mais dois minutos, esfriar e filtrar. Lavar o filtro com água e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico *M* a 10 mL do filtrado. A solução obtida não deve turvar nem precipitar.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Utilizar 1 g da amostra, aquecendo a solução a 80 ºC antes da adição de tioacetamida SR. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra, em estufa. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra previamente dessecada e dissolver em 30 mL de álcool etílico. Agitar até solubilização completa, aquecendo em banho-maria, se necessário, e adicionar duas gotas de fenolftaleína SI e 30 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 40,252 mg de $C_{24}H_{34}O_5$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Colagogo.

ÁCIDO ESTEÁRICO
Acidum stearicum

ácido esteárico; 00182
Ácido octadecanoico
[*57-11-4*]

Mistura dos ácidos esteárico ($C_{18}H_{36}O_2$, 284,48) e palmítico ($C_{16}H_{32}O_2$, 256,43). Pode conter antioxidante.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco a branco-amarelado, ou cristais brancos, floculosos e cerosos, ou massas sólidas brancas a fracamente amareladas. Odor leve, semelhante ao de sebo não rançoso.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em clorofórmio e éter etílico, solúvel em álcool etílico e em éter de petróleo.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de congelamento **(5.2.4)**: não inferior a 54 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpre com os requerimentos do teste *Índice de acidez* em *Ensaios de Pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Agitar, durante dois minutos, 5 g da amostra fundida com volume igual de água quente, esfriar e filtrar. Adicionar uma gota de alaranjado de metila SI ao filtrado. Não se desenvolve coloração avermelhada.

Índice de acidez (5.2.29.7). 194 a 212.

Índice de iodo (5.2.29.10). No máximo 4,0.

Parafina e outras substâncias não saponificáveis. Ferver cerca de 1 g da amostra com 30 mL de água e 0,5 g de carbonato de sódio anidro. A preparação resultante, enquanto quente, é límpida ou, no máximo, levemente opalescente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 4 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

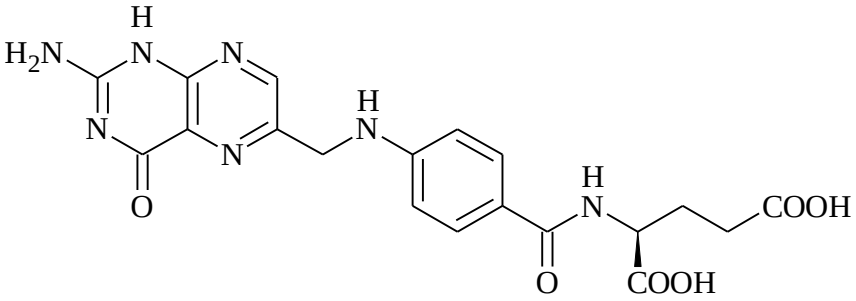
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Matéria-prima para preparação de estearatos de sódio, magnésio, zinco e outros adjuvantes farmacotécnicos.

ÁCIDO FÓLICO

Acidum folicum



$C_{19}H_{19}N_7O_6$; 441,40
ácido fólico; 00194
Ácido *N*-[4-[[(2-amino-3,4-di-hidro-4-oxo-6-pteridinil)metil]amino]benzoil]-L-glutâmico
[*59-30-3*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{19}H_{19}N_7O_6$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, amarelo-alaranjado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, insolúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos. Solúvel em ácido clorídrico, produzindo soluções amarelo-pálidas.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +18 a +22, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 1,0% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Utilizar a *Solução amostra concentrada* como *Solução teste.*

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução teste*. Registrar o cromatograma por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do ácido fólico e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob todos os picos, exceto daquele correspondente ao ácido fólico, não é maior que 2,0% da soma das áreas sob todos os picos registrados, incluindo o correspondente ao ácido fólico. Não considerar picos relativos ao solvente.

Água (5.2.20.1). No máximo 8,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar 1 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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; coluna de 250 nm de comprimento e 4,0 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 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 2 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 1000 mL. Adicionar 650 mL de água, 15 mL de hidróxido de tetrabutilamônio 0,5 *M* em álcool metílico, 7 mL de ácido fosfórico *M*, 270 mL de álcool metílico e homogeneizar. Ajustar o pH para 5,0 com ácido fosfórico *M* ou hidróxido de amônio 6 *M*. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar.

Nota: *proteger da luz direta as soluções descritas a seguir.*

Solução de padrão interno: dissolver 50 mg de metilparabeno em 1 mL de álcool metílico, diluir para 25 mL com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução amostra concentrada: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 40 mL de *Fase móvel* e 1 mL de hidróxido de amônio a 10% (v/v). Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 4 mL da *Solução amostra concentrada* e 4 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão estoque: preparar solução de ácido fólico SQR a 1 mg/mL em *Fase móvel*, utilizando 1 mL de hidróxido de amônio a 10% (v/v) para cada 100 mL de solução.

Solução padrão: transferir 4 mL da *Solução padrão estoque* e 4 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A resolução entre metilparabeno e ácido fólico é, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas da razão entre os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ na amostra a partir das respostas obtidas para a relação ácido fólico/metilparabeno com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hematopoiético.

ÁCIDO FÓLICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{19}H_{19}N_7O_6$.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade de pó equivalente a 50 mg de ácido fólico com 100 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* aquecido entre 40 ºC e 50 ºC. Deixar esfriar e filtrar. Ajustar o pH do filtrado para 3,0 com ácido clorídrico. Resfriar a solução até 5 ºC, filtrar e lavar o precipitado com água fria, até que as águas de lavagem não respondam à reação de cloretos **(5.3.1.1)**. Lavar o precipitado com acetona e secar a 80 ºC, durante uma hora. Transferir 10 mg do resíduo para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*, obtendo solução 0,001% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 386 nm, da solução obtida há máximos em 256 nm, 283 nm e 365 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 256 nm e 365 nm está compreendida entre 2,80 e 3,00.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 500 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm. Usar cubas âmbar ou realizar o teste em condições específicas de iluminação.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e proceder conforme descrito em *Doseamento*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 283 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6

mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; vazão da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* e acetonitrila (93:7). Ajustar o pH da mistura para 6,0 com hidróxido de sódio 5 *M*.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de ácido fólico para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Centrifugar, transferir 5 mL do sobrenadante para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 20 mg de ácido fólico SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL.Completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M* e homogeneizar. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel.*

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

ÁCIDO FOSFÓRICO
Acidum phosphoricum

H_3PO_4; 97,99
ácido fosfórico; 00199
Ácido fosfórico
[*7664-38-2*]

Contém, no mínimo, 85,0% e, no máximo, 88,0%, de H_3PO_4.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido xaroposo, límpido, incolor, corrosivo.

Solubilidade. Miscível em água e em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Quando cuidadosamente neutralizado com hidróxido de sódio *M*, usando fenolftaleína SI como indicador, satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Ácido fosforoso e hipofosforoso. Diluir 6 mL da amostra em 14 mL de água. Aquecer 5 mL da diluição em banho-maria e adicionar 2 mL de nitrato de prata SR. A mistura não deve escurecer ou formar precipitado.

Fosfatos alcalinos. Transferir 1 mL da amostra para um tubo de Nessler e adicionar 6 mL de éter etílico e 2 mL de álcool etílico. Nenhuma turvação é produzida.

Substâncias precipitáveis pela amônia. Para o preparo da *Solução amostra*, dissolver 10 g da amostra e diluir para 100 mL com água. Pipetar 6,7 mL da *Solução amostra* e completar o volume para 10 mL com água. Adicionar 8 mL de amônia SR. A preparação obtida não é mais opalescente que a mistura de 6,7 mL da *Solução amostra* em 18 mL de água.

Sulfatos. Diluir 6 mL da amostra em 90 mL de água e adicionar 1 mL de cloreto de bário SR. Nenhum precipitado se forma imediatamente.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar 15 mL da *Solução amostra* obtida em *Substâncias precipitáveis pela amônia*. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). A 15 mL da *Solução amostra* obtida em *Substâncias precipitáveis pela amônia***,** adicionar 1 mL de nitrato de prata SR. Preparar o padrão concomitantemente misturado 1 mL de ácido nítrico SR, 0,21 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* SV, 1 mL de nitrato de prata SR e 13,79 mL de água. Após cinco minutos ao abrigo da luz, observar os tubos no sentido do eixo longitudinal de cima para baixo e sobre fundo escuro. Se a preparação da amostra apresentar opalescência, deverá ser menos intensa que a da preparação padrão. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar 2 mL da *Solução amostra* obtida em *Substâncias precipitáveis pela amônia.* Utilizar 1 mL de *Solução padrão de ferro (10 ppm Fe)* como padrão. No máximo 0,005% (50 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). No máximo 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra, transferir para um erlenmeyer e acrescentar 10 g de cloreto de sódio e 30 mL de água. Titular com hidróxido de sódio *M* SV utilizando fenolftaleína SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 49,000 mg de H_3PO_4.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e de vidro.

ROTULAGEM

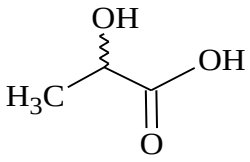
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Preparação de ácido fosfórico diluído.

ÁCIDO LÁCTICO

Acidum lacticum



$C_3H_6O_3$; 90,08
ácido láctico; 00274
Ácido 2-hidroxipropanoico
[*50-21-5*]

Mistura do ácido 2-hidroxipropanoico e seus produtos de condensação, tais como ácido lactoil-lático e os polilácticos e água. O equilíbrio entre o ácido láctico e os ácidos polilácticos é dependente da concentração e da temperatura. O ácido láctico normalmente é um racemato ((*RS*)-ácido láctico), mas o isômero *S* (+) pode predominar. Contém, no mínimo, 88,0% e, no máximo, 92,0% de $C_3H_6O_3$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido viscoso incolor ou levemente amarelado.

Solubilidade. Miscível com água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica **(5.2.8)**: –0,05º a +0,05º, para o ácido láctico racêmico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 1 g da amostra em água. A solução é fortemente ácida (pH menor que 4).

B. Satisfaz às reações do íon lactato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em 42 mL de hidróxido de sódio *M* e diluir para 50 mL com água. A preparação obtida não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC F* **(5.2.12)**.

Açúcares e outras substâncias redutoras. A 10 mL de tartarato cúprico alcalino SR quente adicionar cinco gotas da amostra. Nenhum precipitado vermelho é produzido.

Substâncias facilmente carbonizáveis. Lavar um tubo de ensaio com ácido sulfúrico e deixar escorrer por 10 minutos. Adicionar ao tubo de ensaio 5 mL de ácido sulfúrico e, cuidadosamente, acrescentar 5 mL da amostra, de modo a não misturar os líquidos. Manter o tubo a uma temperatura de 15 ºC. Após 15 minutos, nenhuma coloração escura se desenvolve na interface entre os dois ácidos.

Substâncias insolúveis em éter. Dissolver 1 g da amostra em 25 mL de éter etílico. A solução não é mais opalescente que o solvente utilizado para o teste.

Ácidos oxálico, cítrico e fosfórico. A 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar amônia SR até pH fracamente alcalino (entre 8 e 10). Adicionar 1 mL de solução de cloreto

de cálcio SR. Aquecer em banho-maria por cinco minutos. Qualquer opalescência na preparação, antes ou depois do aquecimento, não é mais intensa que a de uma mistura de 1 mL de água e 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*.

Cálcio (5.3.2.7). Diluir 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 15 mL com água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para cálcio*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). A 10 mL de solução da amostra a 1% (p/v), acidificada com ácido nítrico, adicionar algumas gotas de nitrato de prata 0,1 *M*. Nenhuma opalescência é produzida imediatamente.

Sulfatos (5.3.2.2). A 10 mL de solução da amostra a 1% (p/v) adicionar duas gotas de ácido clorídrico e 1 mL de cloreto de bário SR. Nenhuma turbidez é produzida.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir, quantitativamente, cerca de 1 g da amostra para frasco com tampa, adicionar 10 mL de água e 20 mL de hidróxido de sódio *M*. Fechar o frasco e deixar em repouso por 30 minutos. Adicionar 0,5 mL de fenolftaleína SI e titular com ácido clorídrico *M* SV até desaparecimento da coloração rosa. Cada mL de hidróxido de sódio *M* equivale a 90,080 mg de $C_3H_6O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

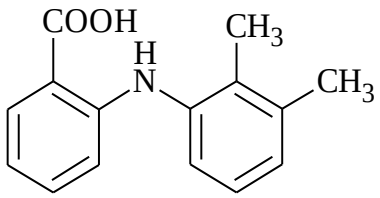
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tamponante.

ÁCIDO MEFENÂMICO

Acidum mefenamicum



$C_{15}H_{15}NO_2$; 241,29
ácido mefenâmico; 00286
Ácido 2-[(2,3-dimetilfenil)amino]benzoico
[*61-68-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{15}NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó microcristalino branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico e álcool metílico. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A**. *O teste de identificação* **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido mefenâmico SQR, preparado de maneira idêntica. Caso o espectro da amostra não se apresente idêntico ao do padrão, dissolver, separadamente, a amostra e o padrão em álcool etílico, evaporar até secura e repetir o teste com os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 380 nm, de solução a 0,002% (p/v) em mistura de ácido clorídrico *M* e álcool metílico (1:99), há máximos em 279 nm e em 350 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 279 nm e 350 nm está compreendida entre 1,1 e 1,3.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* e *Solução teste* como descrito a seguir.

Solução teste: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em *Fase móvel*, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido mefenâmico SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução a 10 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução teste* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos obtidos. Nenhuma impureza individual obtida com a *Solução teste* é maior que 0,1%, , nem o somatório de todas as impurezas é maior que 0,5% quando comparados ao pico principal obtido com a *Solução padrão.*

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por quatro horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 5,0: fosfato monobásico de amônio 50 m*M*, pH 5,0, ajustado com hidróxido de amônio 3 *M*.

Fase móvel: mistura de acetonitrila, *Tampão fosfato pH 5,0* e tetraidrofurano (46:40:14). Desgaseificar e filtrar.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 500 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido mefenâmico SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,2 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 8200 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 1,6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{15}H_{15}NO_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

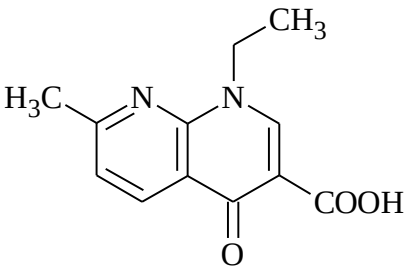
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico.

ÁCIDO NALIDÍXICO

Acidum nalidixicum



$C_{12}H_{12}N_2O_3$; 232,24
ácido nalidíxico; 00294
Ácido 1-etil-1,4-di-hidro-7-metil-4-oxo-1,8-naftiridina-3-carboxílico
[*389-08-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{12}N_2O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a quase branco ou amarelo pálido.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 225 ºC a 231 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido nalidíxico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução da amostra a 0,0005% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximos em 258 nm e 334 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 258 nm e 334 nm está compreendida entre 2,2 e 2,4.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3).*

ENSAIOS DE PUREZA

Absorção de luz. Dissolver 1,5 g da amostra em balão volumétrico de 50 mL com cloreto de metileno e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. A absorvância da solução **(5.2.14)** medida em 420 nm é, no máximo, 0,10.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte, e mistura de amônia SR, cloreto de metileno e álcool etílico (10:20:70), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em cloreto de metileno e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com cloreto de metileno.

Solução (3): dissolver 10 mg de ácido nalidíxico SQR em cloreto de metileno e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução (4): transferir 2 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com cloreto de metileno.

Solução (5): transferir 1 mL da *Solução (4)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com cloreto de metileno.

Solução (6): transferir 1 mL da *Solução (4)* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com cloreto de metileno.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (5)* (0,1%) e no máximo uma mancha é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (6)* (0,04%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 ºC e 105 ºC, por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra e dissolver em 30 mL de dimetilformamida, previamente neutralizada, utilizando timolftaleína SI como indicador. Titular com metóxido de lítio 0,1 *M* SV, utilizando timolftaleína SI como indicador. Utilizar agitador magnético e tomar precauções para evitar absorção de dióxido de carbono atmosférico. Cada mL de metóxido de lítio 0,1 *M* SV equivale a 23,224 mg de $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

ÁCIDO NALIDÍXICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 1 g de ácido nalidíxico, adicionar 50 mL de clorofórmio, agitar por 15 minutos, filtrar e evaporar o filtrado até secura. O resíduo responde ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Ácido nalidíxico.*

B. Secar o resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação*, a 105 ºC por duas horas. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução do resíduo a 0,0008% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximos em 258 nm e 334 nm.

C. Secar o resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação*, a 105 ºC por duas horas. Temperatura de fusão **(5.2.2)**: em torno de 228 ºC.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de dose unitária (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} como suporte, e mistura de amônia 5 *M*, cloreto de metileno e álcool etílico (20:30:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Dissolver quantidade de pó equivalente a 0,1 g de ácido nalidíxico em 50 mL de cloreto de metileno, agitar por 15 minutos, filtrar e evaporar até secura. Dissolver o resíduo em 5 mL de cloreto de metileno.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com cloreto de metileno. Pipetar 5 mL, transferir para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com cloreto de metileno e homogeneizar.

Solução (3): Pipetar 4 mL da *Solução (2)*, transferir para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com cloreto de metileno e homogeneizar

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nenhuma mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, além da mancha principal, deve ser mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (2)* (0,25%) e no máximo uma mancha é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (3)* (0,1%).

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 8,6, 900 mL.
Aparelhagem: pá, 60 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em hidróxido de sódio 0,01 *M* até a concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 334 nm **(5.2.14),** utilizando uma mistura de hidróxido de sódio 0,01 *M* e meio de dissolução, na mesma proporção da solução teste, para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de ácido nalidíxico dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a solução de ácido nalidíxico SQR na concentração de 0,00055% (p/v) em hidróxido de sódio 0,01 *M*.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de ácido nalidíxico se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de ácido nalidíxico para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 150 mL de hidróxido de sódio *M*, agitar por três minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Deixar a solução em repouso por 15 minutos. Transferir 2 mL para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com água. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir a absorvância da solução resultante em 334 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 494, em 334 nm, em hidróxido de sódio 0,01 *M*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁCIDO NALIDÍXICO SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

Transferir 5 mL da amostra para funil de separação, adicionar 30 mL de água e 20 mL de carbonato de sódio decaidratado a 10% (p/v). Homogeneizar. Extrair com duas porções de 30 mL de clorofórmio. Acidificar a solução aquosa com ácido clorídrico 5 *M*, adicionar 40 mL de clorofórmio e agitar. Recolher a camada clorofórmica e transferir para funil de separação, lavar com 10 mL de água e adicionar 0,5 mL de ácido clorídrico 5 *M*. Filtrar a camada clorofórmica em algodão e evaporar o filtrado até secura. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução do resíduo a 0,0008% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há dois máximos, em 258 nm e 334 nm.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume ou massa da suspensão oral, equivalente a 0,12 g de ácido nalidíxico, para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar hidróxido de sódio 0,01 *M*, agitar e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,01 *M*. Filtrar, se necessário. Medir a absorvância da solução resultante em 334 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ na suspensão oral, considerando A (1%,1 cm) = 494, em 334 nm, em hidróxido de sódio 0,01 *M*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

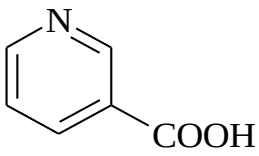
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁCIDO NICOTÍNICO

Acidum nicotinicum



$C_6H_5NO_2$; 123,11
ácido nicotínico; 00296
Ácido 3-piridinacarboxílico
[*59-67-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_5NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino branco ou cristais brancos. *Ponto de fusão* **(5.2.2)**: em torno de 235 ºC.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em água em ebulição e em álcool etílico em ebulição. Facilmente solúvel em soluções de hidróxidos e carbonatos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A**. *O teste de identificação* **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido nicotínico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 300 nm, da *Solução amostra* obtida no método de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de ácido nicotínico SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 237 nm e 262 nm está compreendida entre 0,46 e 0,50.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade à mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (3)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 15 ºC; fluxo da *Fase móvel* 1,0 mL/minuto.

Eluente A: misturar 2 mL de ácido acético glacial em 950 mL de água pH 5,6 previamente ajustado com amônia diluída, diluir com água para 1000 mL e homogeneizar.

Eluente B: mistura de acetonitrila e álcool metílico (50:50).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 10	100	0	isocrática
10 - 30	100 → 20	0 → 80	gradiente linear
30 - 35	20	80	isocrática
35 - 40	20 → 100	80 → 0	gradiente linear
40 - 48	100	0	isocrática

Solução (1): dissolver 0,12 g da amostra, pesada com exatidão, em 200 µL de amônia diluída e diluir para 10 mL com *Eluente A*.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Eluente A.* Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com *Eluente A* e homogeneizar.

Solução (3): preparar solução contendo 12 µg/mL de impureza A (ácido 6-metilnicotínico) e de impureza B (ácido 6,6'-dinicotínico) em *Eluente A* ou dissolver o conteúdo do frasco de mistura de impurezas do ácido nicotínico SQR (contendo as impurezas A e B) em 1 mL do *Eluente A*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (3)*. A resolução entre os picos das impurezas A e B é, no mínimo, 1,5. Em relação ao ácido nicotínico (tempo de retenção em torno de seis minutos), o tempo de retenção relativo da impureza A é cerca de 2,7; da impureza B é cerca de 2,8.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza presente na *Solução (1)*. Qualquer impureza individual, apresenta, no máximo, 0,5 vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com *Solução (2)* (0,05%). O total de impurezas encontradas é de, máximo, 0,5 vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com *Solução (2)* para impurezas totais (0,05%). Não considerar picos com área inferior a 0,3 vez a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (2)* (0,03%).

Cloretos (5.3.2.1). Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 40 mL de água aquecida. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. Utilizar 0,30 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* SV. No máximo 0,02% (200 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 40 mL de água aquecida. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. Utilizar 0,20 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* SV. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Misturar 1 g da amostra com 4 mL de ácido acético *M*, diluir em água para 25 mL, aquecer cautelosamente a preparação até completa solubilização e resfriar. Prosseguir com o ajuste do pH e diluição com água, conforme descrito no *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por uma hora. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 200 mg da amostra e dissolver em *Tampão fosfato pH 7,0*. Completar o volume para 500 mL com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar com *Tampão fosfato pH 7,0* e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir a absorvância das soluções resultante em 262 nm, utilizando *Tampão fosfato pH 7,0* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_6H_5NO_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

Tampão fosfato pH 7,0: dissolver 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água. Ajustar para pH 7,0 com solução de hidróxido de sódio 50% (p/v).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

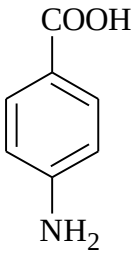
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina.

ÁCIDO PARAMINOBENZOICO

Acidum 4-aminobenzoicum



$C_7H_7NO_2$; 137,14
ácido paraminobenzoico; 00098
Ácido 4-aminobenzoico
[*150-13-0*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_7H_7NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou agulhas, de cor branca ou branco-amarelada. Escurece quando exposto ao ar e à luz.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções de hidróxidos e carbonatos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 186,0 ºC a 189,0 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido paraminobenzoico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 1% (p/v) em álcool isopropílico, há máximo em 288 nm. A absorvância em 288 nm é de, aproximadamente, 1,370.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas 1. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila, álcool metílico e solução aquosa contendo 1,5 g/L de fosfato de potássio dibásico e 2,5 g/L de 1-octanossulfonato de sódio previamente ajustada ao pH 2,2 com ácido fosfórico (70:80:600).

Solução amostra: dissolver, com exatidão, cerca de 25 mg de amostra em *Fase móvel* e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução padrão: dissolver, com exatidão, cerca de 25 mg de ácido 4-nitrobenzoico e 25 mg de benzocaína em álcool metílico e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir 1 mL para 50 mL com *Fase móvel*. Diluir 1 mL da solução resultante para 10 mL com *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, 11 vezes o tempo de retenção do pico do ácido paraminobenzoico e medir a área sob os picos. A área sob o pico do ácido 4-nitrobenzoico na *Solução amostra* não é maior que o pico correspondente na *Solução padrão* (0,2%). A área sob o pico da benzocaína na *Solução amostra* não é maior que o pico correspondente na *Solução padrão* (0,2%). Nenhuma outra impureza deverá ter pico com área maior que 0,5 vezes a área sob o pico obtido com o ácido 4-nitrobenzoico na *Solução padrão*. Não considerar picos com área 0,1 vezes inferior a área sob o pico do ácido 4-nitrobenzoico obtido com a *Solução padrão* (0,02%).

Substâncias relacionadas 2. 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 0,32 mm de diâmetro interno, de sílica fundida, preenchida com poli(metil(95)fenil(5)) siloxano, com espessura de filme de 0,5 µm. A temperatura do injetor deverá ser ajustada para 280 ºC, a temperatura do detector para 300 ºC e a temperatura da coluna programada para iniciar em 130 ºC durante quatro minutos, com incremento de 130 ºC a 180 ºC a 20 ºC por minuto e manter a 200 ºC durante cinco minutos (total: 11,5 minutos). Usar hélio purificado como gás de arraste, fluxo em1 mL/minuto.

Solução de padrão interno: dissolver 20,0 mg de ácido láurico em cloreto de metileno e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (1): dissolver 1,0 g da amostra em 10 mL de uma solução de hidróxido de sódio 84 g/L e extrair com duas porções de 10 mL de cloreto de metileno. Combinar os líquidos e lavar com 5 mL de água, filtrar com sulfato de sódio anidro. Lavar o filtro com cloreto de metileno. Evaporar em banho-maria a 50-60 ºC para obter um volume entre 1 mL e 5 mL. Adicionar 1,0 mL da *Solução de padrão interno* e diluir para 10 mL com cloreto de metileno.

Solução (2): dissolver 20 mg de anilina em cloreto de metileno e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): dissolver 20 mg de p-toluidina em cloreto de metileno e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): diluir 0,50 mL da *Solução (2)*, 0,50 mL da *Solução (3)* e 10,0 mL da *Solução de padrão interno* para 100 mL com cloreto de metileno.

Procedimento: injetar volume de 2 µL da *Solução (1)* e da *Solução (4)* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:10. Calcular a razão (R1) entre a área sob o pico correspondente a anilina e a área sob o pico correspondente ao padrão interno no cromatograma obtido com a *Solução (4)*; calcular a razão (R2) entre a área sob o pico correspondente a anilina e a área sob o pico correspondente ao padrão interno no cromatograma obtido com a *Solução (1)*. R2 não é maior que R1 (10 ppm). Calcular a razão (R3) entre a área sob o pico correspondente a p-toluidina e a área sob o pico correspondente ao padrão interno no cromatograma obtido com a *Solução (4)*; calcular a razão

(R4) entre a área sob o pico correspondente a p-toluidina e a área sob o pico correspondente ao padrão interno no cromatograma obtido com a *Solução (1)*. R4 não é maior que R3 (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Suspender 1 g da amostra em 15 mL de água destilada e adicionar quantidade de hidróxido de amônio 6 *M* até dissolução. Adicionar ácido acético SR até que a mistura fique levemente ácida ao papel tornassol e adicionar 2 mL do mesmo ácido. Prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). No máximo 0,2%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e dissolver em 50 mL de água com aquecimento. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 13,714 mg de $C_7H_7NO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e opacos.

ROTULAGEM

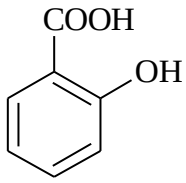
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Protetor tópico.

ÁCIDO SALICÍLICO

Acidum salicylicum



$C_7H_6O_3$; 138,12
ácido salicílico; 00340
Ácido 2-hidroxibenzoico
[*69-72-7*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 101,0% de $C_7H_6O_3$, calculado em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais brancos ou incolores em forma de agulhas finas. O produto sintético é branco. Quando obtido a partir do salicilato de metila de origem natural, pode ter leve coloração amarela ou rósea.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico, ligeiramente solúvel em óleos graxos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 158 ºC a 161 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido salicílico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde àquele do pico principal da *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido acético glacial, álcool metílico e água (1:40:60). Fazer os ajustes necessários com o ácido acético glacial.

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g de amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com *Fase móvel.*

Solução (2): preparar solução a 5 mg/mL de ácido salicílico SQR em *Fase móvel.*

Solução (3): preparar solução a 0,1 mg/mL de fenol em *Fase móvel.*

Solução (4): preparar solução a 0,25 mg/mL de ácido 4-hidróxi isoftálico em *Fase móvel.*

Solução (5): preparar solução a 0,5 mg/mL de ácido 4-hidroxibenzoico em *Fase móvel.*

Solução (6): diluir 1 mL da *Solução (3)* para 10 mL com *Fase móvel.*

Solução (7): diluir 1 mL das *Soluções (3), (4)* e *(5)* para 10 mL com *Fase móvel.*

Solução (8): diluir 1 mL da *Solução (7)* para 10 mL com *Fase móvel.*

Injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções (6)* e *(7)* e registrar o cromatograma. Os tempos de retenção relativos em relação ao fenol são cerca de 0,70 para ácido 4-hidroxibenzoico e 0,90 para ácido 4-hidróxi isoftálico. A resolução entre o ácido 4-hidróxi isoftálico e o fenol não é inferior a 1,0. O terceiro pico obtido com a *Solução (7)* corresponde ao pico principal do fenol no cromatograma obtido com a *Solução (6)*.

Injetar 10 µL da *solução (8)*. Ajustar a sensibilidade do detector de forma que a altura do pico principal seja, no mínimo, 70% do total da escala completa.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (8)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. A área sob o pico relativo ao ácido 4-hidroxibenzoico, obtido com a *Solução (1)*, não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (8)* (0,1%). A área sob o pico relativo ao ácido 4-hidróxi isoftálico, obtido com a *Solução (1)*, não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (8)* (0,05%). A área sob o pico relativo ao fenol, obtido com a *Solução (1)*, não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (8)* (0,02%). Qualquer outra impureza registrada no cromatograma da *Solução (1)* não possui área maior que a área obtida com o pico do ácido 4-hidróxi isoftálico da *Solução (8)* (0,05%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico do solvente, não é maior que duas vezes a área sob o pico do ácido 4-hidroxibenzoico, obtido com a *Solução (8)* (0,2%). Não considerar picos com área inferior a 0,01 vezes àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (8)*.

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver, sob aquecimento, 1,0 g da amostra em 50 mL de água destilada. Deixar resfriar, filtrar para balão volumétrico de 50 mL, lavar o filtro até completar 50 mL no balão. Um volume de 25 mL do filtrado não contém mais cloreto do que o correspondente a 0,20 mL do ácido clorídrico 0,01 *M*. No máximo 0,014% (140 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). A 25 mL do filtrado, obtido em *Cloretos*, adicionar duas gotas de ácido clorídrico e 3 mL de cloreto de bário SR. A preparação obtida não é mais opalescente que 0,2 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* em 25 mL da solução com duas gotas de ácido clorídrico SR e 3 mL de cloreto de bário. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1,0 g em 15 mL de álcool etílico e adicionar 15 mL de água. Proceder como descrito em *Ensaio limite de metais pesados, Método II*. Máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,05%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 25 mL de álcool etílico, previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Utilizar fenolftaleína SI como indicador e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, até o aparecimento de coloração rósea. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 13,812 mg de $C_7H_6O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

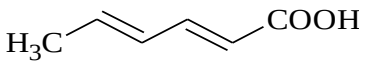
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Ceratolítico.

ÁCIDO SÓRBICO

Acidum sorbicum



$C_6H_8O_2$; 112,13
ácido sórbico; 00346
Ácido (2*E*,4*E*)-2,4-hexadienoico
[*110-44-1*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_8O_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 132 ºC a 136 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido sórbico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 50 mg da amostra em água e completar volume para 250 mL. Diluir 2 mL desta solução para 200 mL com ácido clorídrico 0,1 *M*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** na faixa de 230 nm a 350 nm da solução obtida há máximo em 264 nm (± 2 nm). A absorvância em 264 nm é de 0,43 a 0,51.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação da amostra a 5% (p/v)em álcool etílico é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Limite de aldeídos. Dissolver 1 g da amostra em uma mistura de 50 mL de álcool isopropílico e 30 mL de água. Ajustar o pH da solução para 4,0 com ácido clorídrico 0,1 *M* ou hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume para 100 mL com água. A 10 mL da solução, adicionar 1 mL de fucsina descorada SR e deixar em repouso por 30 minutos. A cor produzida não deve ser mais intensa que a obtida em solução preparada pela adição de 1 mL de fucsina descorada SR em mistura de 1,5 mL de solução padrão de acetaldeído (100 ppm C_2H_4O), 4 mL de álcool isopropílico e 4,5 mL de água. (0,15%, calculado como C_2H_4O).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método II*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 2 g de substância. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de substância. No máximo 0,2%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, 0,1 g da amostra e dissolver em 20 mL de álcool etílico. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando 0,2 mL de fenolftaleína SI como indicador, até viragem para róseo. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 11,213 mg de $C_6H_8O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e do calor excessivo.

ROTULAGEM

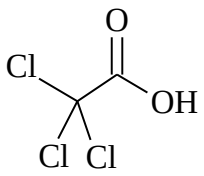
Observar a legislação vigente

CATEGORIA

Conservante antimicrobiano, especialmente contra fungos e leveduras.

ÁCIDO TRICLOROACÉTICO

Acidum trichloraceticum



$C_2HCl_3O_2$; 163,39
ácido tricloroacético; 00366
Ácido 2,2,2-tricloroacético
[*76-03-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_2HCl_3O_2$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Massa cristalina, branca ou cristais incolores muito deliquescentes.

Solubilidade. Muito solúvel em água e em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 0,5 mL da solução obtida em *Ensaio limite para cloretos* adicionar 2 mL de piridina e 5 mL de solução concentrada de hidróxido de sódio SR. Agitar vigorosamente e aquecer em banho-maria de 60 ºC a 70ºC durante cinco minutos. A fase superior apresenta coloração vermelha intensa.

B. A solução obtida em *Ensaio limite para cloretos* é fortemente ácida.

ENSAIOS DE PUREZA

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 2,5 g da amostra em água e completar para 25 mL com o mesmo solvente. Pipetar 5 mL dessa solução e completar o volume para 15 mL com água. A solução satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%, determinadas em 1,0 g da amostra.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,150 g da amostra em 20 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizando fenolftaleína SI como indicador. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV corresponde a 16,339 mg de $C_2HCl_3O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

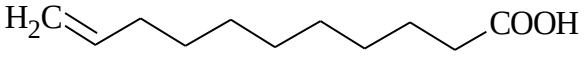
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Possui ação cáustica.

ÁCIDO UNDECILÊNICO

Acidum undecylenicum



$C_{11}H_{20}O_2$; 184,28
ácido undecilênico; 00367
Ácido 10-undecenoico
[*112-38-9*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{11}H_{20}O_2$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido incolor ou amarelo pálido, ou massa cristalina branca ou amarela pálida, dependendo da temperatura.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico, óleos graxos e essenciais.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,910 a 0,913.

Temperatura de congelamento **(5.2.4):** entre 21 ºC e 24 ºC.

Índice de refração **(5.2.6):** entre 1,447 a 1,450, determinado a (25,0 ± 0,5) ºC.

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver 0,1 g da amostra em mistura de 2 mL de ácido sulfúrico *M* e 5 mL de ácido acético glacial. Adicionar, gota a gota, 0,25 mL de permanganato de potássio SR. A solução de permanganato de potássio se descolore.

ENSAIOS DE PUREZA

Ácidos solúveis em água. Adicionar 5 mL de água a 5 mL da amostra, homogeneizar e filtrar a camada aquosa em papel de filtro umedecido com água. Adicionar uma gota de alaranjado de metila SI e titular com hidróxido de sódio 0,01 *M* SV. No máximo 1 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* SV é necessário para se obter coloração idêntica à produzida por uma gota de alaranjado de metila SI em 5 mL de água.

Índice de iodo (5.2.29.10). 131 a 138.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,15%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da amostra e dissolver em 50 mL de álcool etílico. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando 0,2 mL de fenolftaleína SI como indicador, até viragem para róseo persistente por, no mínimo, 30 segundos. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 18,428 mg de $C_{11}H_{20}O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e não metálicos, protegidos da luz.

ROTULAGEM

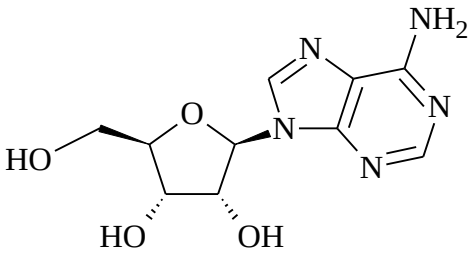
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico tópico.

ADENOSINA

Adenosinum



$C_{10}H_{13}N_5O_4$; 267,25
adenosina; 00419
9-β-D-Ribofuranosil-9*H*-purina-6-amina
[*58-61-7*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{10}H_{13}N_5O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em água aquecida, praticamente insolúvel em álcool etílico. Dissolve-se em ácidos minerais diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 233 ºC a 238 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -45 a -49, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2,5% (p/v) em ácido clorídrico *M*. Examinar em até, no máximo, 10 minutos após o preparo.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de adenosina SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez e alcalinidade. Dispersar 2,5 g da amostra em 50 mL de água, aquecer até a ebulição, esperar esfriar e filtrar à vácuo. Diluir para 100 mL com água. A 10 mL do filtrado, adicionar 0,1 mL de púrpura de bromocresol SI e 0,3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* SV. A solução torna-se amarela. Adicionar 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* SV. A solução torna-se violeta-azulada.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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.

Tampão sulfato: dissolver 6,8 g de sulfato de potássio monobásico e 3,4 g de sulfato de tetrabutilamônio em 800 mL de água, ajustar a pH 6,5 com hidróxido de potássio 2 *M* e completar o volume para 1000 mL com água. Homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão sulfato* e solução de azida sódica 0,0001% (p/v) (60:40). Filtrar e desgaseificar.

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 20 mg de adenosina SQR e 20 mg de inosina, transferir para balão volumétrico e completar o volume para 100 mL com *Fase móvel*.

Solução (2): preparar solução da amostra na concentração de 1 mg/mL, em fase móvel.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. Os tempos de retenção relativos à adenosina, cujo tempo de retenção é de cerca de um minuto, são cerca de 0,29 para uridina, 0,34 para adenina, 0,42 para iosina e 0,42 para guanosina. Determinar a porcentagem de cada uma das impurezas encontradas na *Solução (2)*, na qual o conteúdo individual de guanosina, inosina e uridina são, no máximo, 0,1%, em relação à adenosina. O conteúdo de adenina é, no máximo, 0,2% em relação à adenosina. A soma das áreas sob todos os picos obtidos, exceto o pico principal, é inferior a 0,5%. O teste somente será válido se a resolução entre os picos obtidos com a *Solução (1)* for, no mínimo, 1,5 e o fator de cauda for, no máximo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2%.

Amônia. Suspender 0,5 g da amostra em 10 mL de água, agitar por 30 segundos e filtrar. Diluir o filtrado até 15 mL com água, homogeneizar e utilizar essa solução como amostra. Diluir 1 mL de solução de cloreto de amônia a 0,0314% (p/v) em 100 mL de água. Como solução padrão, utilizar 2 mL da solução anterior e adicionar 13 mL de água. Adicionar 0,3 mL de solução alcalina de tetraiodomercurato(II) de potássio, em ambas as soluções, homogeneizar, deixar em repouso por cinco minutos. A cor amarela produzida na amostra deve ser, no máximo, igual à do padrão. No máximo 0,0004% (4 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Suspender 0,2 g da amostra em 10 mL de água, agitar por 30 segundos e filtrar. Diluir o filtrado para 15 mL com água. A solução satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo 0,007% (70 ppm).

Sulfatos. Suspender 0,75 g da amostra em 15 mL de água, agitar por 30 segundos e filtrar. Utilizar o filtrado como solução amostra. Preparar solução padrão com 0,30 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* em 15 mL de água. Adicionar às soluções amostra e padrão, 2 mL de cloreto de bário SR, 1 mL de ácido clorídrico 3 *M*, 30 mL de água e homogeneizar. A turbidez da solução amostra não deve ser superior à do padrão. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método II*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.4.5).** Dissolver 0,1 g da amostra previamente dessecada em 20 mL de ácido acético glacial e adicionar 30 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 26,724 mg de $C_{10}H_{13}N_5O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiarrítmico.

ÁGAR-ÁGAR
Agar

ágar-ágar; 09547
Ágar
[*9002-18-0*]

Substância seca, coloidal, hidrofílica extraída de algas *Gelidium cartilagineum* L. (Gaillon) – GELIDIACEAE, *Gracilaria confervoides* L. (Greville) – SPHAEROCOCCACEAE e algas vermelhas relacionadas (Classe RHODOPHYCEAE).

DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Apresenta-se em feixes, consistindo de tiras membranosas aglutinadas ou em forma de grânulos ou flocos. Pode apresentar-se com coloração amarelo-alaranjada, cinza-amarelada, levemente amarela ou incolor. É resistente quando úmido e quebradiço quando seco.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Em montagem na água, o ágar apresenta-se granular e um tanto filamentoso; fragmentos de espícula de espongiários e algumas frústulas de diatomáceas podem estar presentes. Eventualmente, conforme a procedência, podem estar presentes frústulas de *Arachnoidiscus ehrenbergii* Baillon, que se caracterizam pela forma de disco de 100 µm a 300 µm de diâmetro.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O ágar pulverizado apresenta coloração branca ou branco-amarelada ou levemente amarela. Em montagem em cloral hidratado os seus fragmentos são transparentes, mais ou menos granulares, estriados e angulares, podendo, ocasionalmente, conter frústulas de diatomáceas.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver aquecendo 0,1 g da amostra em 50 mL de água. Esfriar. A 1 mL da mucilagem, adicionar, cuidadosamente, 3 mL de água, de modo a formar duas camadas distintas. Adicionar 0,1 mL de solução de iodo 0,05 *M*. Desenvolve-se coloração castanho-violeta na interface. Agitar a mistura. O líquido adquire coloração amarelo-pálida.

B. Adicionar 0,5 mL de ácido clorídrico a 5 mL da mucilagem obtida no teste **A.** de *Identificação*. Aquecer por 30 minutos em banho-maria. Adicionar 1 mL de solução de cloreto de bário a 0,67% (p/v). Desenvolve-se turvação branca após 30 minutos.

C. Aquecer 0,5 g com 50 mL de água em banho-maria, até dissolução. Apenas uns poucos fragmentos permanecem insolúveis. Ao resfriar, a solução gelifica entre 35 ºC e 30 ºC. Aquecer o gel obtido em banho-maria. Não ocorre liquefação em temperatura inferior à 85 ºC.

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de intumescência (5.4.1.11). Determinar sobre amostra pulverizada até pó semifino **(5.2.11)**. O índice de intumescência é, no mínimo, 10 e difere de, no máximo, 10% do valor declarado no rótulo.

Matérias estranhas insolúveis. Pesar 5 g da amostra pulverizada até pó semifino **(5.2.11)**, adicionar 100 mL de água e 14 mL de ácido clorídrico SR. Ferver, cuidadosamente, por 15 minutos, agitando frequentemente. Filtrar o líquido quente em funil de vidro sinterizado previamente tarado, lavar o filtro com água quente e secar à temperatura entre 100 ºC e 105 ºC. No máximo 1,0%.

Gelatina. Pesar 1 g da amostra, adicionar 100 mL de água e aquecer em banho-maria até dissolução. Deixar esfriar até 50 ºC. A 5 mL da solução anterior, adicionar 5 mL de ácido pícrico a 10% (p/v). Não se desenvolve turbidez após 10 minutos.

Determinação de água (5.4.1.4). Determinar em 1 g da amostra pulverizada até pó semifino **(5.2.11)**, em estufa à temperatura entre 100 ºC e 105 ºC, até peso constante. No máximo 20,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 5,0%, em relação à substância dessecada.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados, ao abrigo da umidade.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante (espessante).

ÁGUA ESTÉRIL PARA IRRIGAÇÃO

Sterilis aqua inrigandi

Água estéril para irrigação é preparada com *Água para injetáveis* estéril e adequadamente envasada. Não contém substâncias antimicrobianas ou adição de outras substâncias.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias oxidáveis. Ferver 100 mL da amostra com 10 mL de ácido sulfúrico 2 *M*. Para água estéril para irrigação**,** em frascos com volume menor que 50 mL, adicionar 0,4 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* e ferver por cinco minutos; quando o volume contido no frasco for de 50 mL ou mais, adicionar 0,2 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* e ferver por cinco minutos. Se formar precipitado, resfriar em banho de gelo até temperatura ambiente e filtrar em filtro sinterizado. A cor rosa não desaparece completamente.

Condutividade da água (5.2.24). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,25 UE/mL de amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Preservar em recipientes de vidro ou de plástico para dose única. Recipientes de vidro são preferivelmente de vidro tipo I ou tipo II **(6.1)**. Os recipientes devem conter volumes de mais de 1000 mL e devem ser desenhados para permitir esvaziamento rápido.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve indicar que não houve adição de antimicrobianos ou outras substâncias. As designações “Somente para irrigação” e “Não para injeção” aparecem em destaque no rótulo.

Nota: *para recomendações microbiológicas, veja Água para uso farmacêutico* **(5.5.3.6)**.

ÁGUA PARA INJETÁVEIS
Aqua ad injectabile

H_2O; 18,02
água para injetáveis; 09320
Água
[*7732-18-5*]

Água para injetáveis é o insumo utilizado na preparação de medicamentos para administração parenteral, como veículo, na dissolução ou na diluição de substâncias ou de preparações. Outros exemplos de aplicações farmacêuticas são: a fabricação de princípios ativos de uso parenteral, para lavagem final de equipamentos, tubulação e recipientes usados em preparações parenterais e na limpeza de certos equipamentos.

Água para injetáveis é obtida por destilação da água adequadamente tratada, em equipamento cujas partes em contato com a água são de vidro neutro, quartzo ou outro material apropriado. Pode ser obtida também por processo equivalente ou superior à destilação, na remoção de contaminantes químicos, micro-organismos e endotoxinas bacterianas. O processo de obtenção deve ser validado.

Para assegurar que a água atende aos requisitos de qualidade requeridos, sua produção deve ser monitorada, por meio de procedimentos validados, quanto aos parâmetros de condutividade elétrica, carbono orgânico total, endotoxinas e contagem microbiana.

Água esterilizada para injeção. Água esterilizada para injeção é a *água para injetáveis* que, após esterilização, foi armazenada em recipientes inertes, como o aço inox 316L polido, mantidos fechados, em temperatura de 80 ºC a 85 ºC e sob recirculação, por um período máximo de 24 horas, em condições tais, que assegurem o atendimento ao teste de endotoxinas bacterianas. A água esterilizada é isenta da adição de qualquer substância.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, insípido e inodoro.

ENSAIOS DE PUREZA

Cumpre com os testes descritos em *Ensaios de pureza* na monografia de *Água purificada*.

A *Água esterilizada para injeção* cumpre com os testes descritos em *Ensaios de pureza* na monografia de *Água purificada* e com o teste adicional apresentado a seguir.

Contaminação por partículas: partículas sub-visíveis (5.1.7.1). Cumpre o teste 1 ou 2, conforme o volume dos recipientes.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de bactérias heterotróficas (5.5.3.6.1). Cumpre o teste. No máximo 10 UFC/100 mL.

Pesquisa de coliformes totais e fecais (5.5.3.6.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (5.5.3.6.3). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,25 UE/mL.

A água esterilizada para injeção cumpre adicionalmente com o Teste de esterilidade **(5.5.3.2.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Armazenada e distribuída em condições adequadas para assegurar a manutenção das propriedades físico-químicas e microbiológicas exigidas.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁGUA PURIFICADA
Aqua purificata

H_2O; 18,02
água purificada; 09879
Água
[*7732-18-5*]

Água purificada é a água potável que passou por algum tipo de tratamento para retirar os possíveis contaminantes e atender aos requisitos de pureza estabelecidos nessa monografia. É preparada por destilação, troca iônica, osmose reversa ou por outro processo adequado. Deve estar isenta da adição de quaisquer substâncias dissolvidas. Geralmente é utilizada na preparação de medicamentos que não requeiram água estéril nem apirogênica, destinados ao uso não parenteral.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, insípido e inodoro.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Em 20 mL da amostra adicionar 0,05 mL de vermelho de fenol SI. Se a solução é amarela, torna-se vermelha, com a adição de 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*; sendo vermelha torna-se amarela, com a adição de 0,15 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*.

Carbono orgânico total (5.2.30). Alternativamente, substitui o teste para substâncias oxidáveis. No máximo 0,50 mg/L.

Substâncias oxidáveis. Ferver 100 mL da amostra com 10 mL ácido sulfúrico 1 *M*. Adicionar 0,2 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* SV e deixar em ebulição durante cinco minutos. A solução remanescente é fracamente rosada.

Condutividade da água (5.2.24). No máximo 1,3 µS/cm a 25,0 ºC. O usuário deve definir o limite máximo adequado para a aplicação específica, conforme descrito em *Água para uso farmacêutico* (**capítulo 8.5, volume 1**). Alternativamente substitui os testes para *Amônio*, *Cálcio e Magnésio*, *Cloretos*, *Nitratos* e *Sulfatos*.

Amônio. Adicionar 1 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR1 em 20 mL da amostra. Após cinco minutos, examinar a solução no eixo vertical do tubo. A solução não é mais intensamente colorida do que o padrão pela adição de 1 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR1 a uma mistura de 4 mL de solução padrão de amônio (1 ppm NH_4) e 16 mL de água isenta de amônia. No máximo 0,00002% (0,2 ppm).

Cálcio e magnésio. Adicionar 2 mL de tampão de cloreto de amônio pH 10,0, 0,5 mL de negro de eriocromo T e 5 µL de edetato de sódio 0,05 *M* em 100 mL da amostra. Uma coloração azul límpida é produzida. No máximo 1 ppm.

Cloretos. Adicionar 1 mL de ácido nítrico SR e 0,2 mL de nitrato de prata 0,1 *M* em 10 mL da amostra. A solução não apresenta alterações na aparência por, pelo menos, 15 minutos.

Nitratos. Transferir 5 mL de amostra para tubo de ensaio imerso em água gelada, adicionar 0,4 mL de solução de cloreto de potássio a 10% (p/v) e 0,1 mL de difenilamina 0,1% (p/v). Gotejar, sob

agitação, 5 mL de ácido sulfúrico isento de nitrogênio. Transferir o tubo para banho-maria a 50 ºC. Após 15 minutos, qualquer coloração azul desenvolvida na solução não é mais intensa do que a da solução padrão, preparada concomitantemente e da mesma maneira, utilizando uma mistura de 4,5 mL de água isenta de nitrato e 1 mL de solução padrão de nitrato 2 ppm em NO_3, recém preparada. No máximo 0,00002% (0,2 ppm).

Sulfatos. Adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 0,1 mL de solução aquosa de cloreto de bário 6,1% (p/v) em 10 mL da amostra. A solução não apresenta alterações na aparência, por pelo menos uma hora.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de bactérias heterotróficas (5.5.3.6.1). Cumpre o teste. No máximo 100 UFC/mL.

Pesquisa de coliformes totais e fecais (5.5.3.6.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (5.5.3.6.3). Cumpre o teste.

A modalidade de água purificada estéril, utilizada na preparação de colírios e demais processos, que não podem passar por esterilização final por calor ou filtração, deve atender, adicionalmente, ao teste de esterilidade **(5.5.3.2.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes inertes, tais como vidro ou aço inox 316L polido, adequadamente identificados, que assegurem as propriedades físico-químicas e microbiológicas exigidas. Caso seja necessário estocar, a água purificada deve ser armazenada e distribuída em condições adequadas para prevenir o crescimento microbiano e evitar qualquer outra contaminação.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁGUA ULTRAPURIFICADA

Aqua ultra purificata

H_2O; 18,02
água ultrapurificada; 09880
Água
[*7732-18-5*]

Água ultrapurificada é a água purificada que passou por tratamento adicional para retirar os possíveis contaminantes e atender aos requisitos de pureza estabelecidos nessa monografia. É preparada pela complementação de um conjunto de processos, como destilação, troca iônica, osmose reversa, dentre outros. Não possui substância dissolvida. Geralmente é utilizada na preparação de medicamentos destinados ao uso não parenteral, mas que requeiram água de alta pureza ou na maioria de procedimentos laboratoriais de ensaio, que requeiram leituras em baixas concentrações ou que a pureza da água possa afetar a sensibilidade, a reprodutibilidade ou a robustez do método analítico.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, insípido e inodoro.

ENSAIOS DE PUREZA

Condutividade da água (5.2.24). No máximo 0,1 µS/cm a 25,0 ºC.

Carbono orgânico total (5.2.30). No máximo 0,50 mg/L. ***Nota:*** *este ensaio é opcional. Deve ser empregado caso a aplicação específica requeira esse controle.*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de bactérias heterotróficas (5.5.3.6.1). Cumpre o teste. No máximo 10 UFC/100 mL.

Pesquisa de coliformes totais e fecais (5.5.3.6.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (5.5.3.6.3). Cumpre o teste.

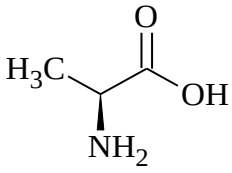
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes poliméricos ou de vidro, conforme a aplicação, que assegurem as propriedades físico-químicas e microbiológicas exigidas. Caso seja necessário estocar, a água ultrapurificada pode ser armazenada por, no máximo, 24 horas e em condições adequadas para prevenir o crescimento microbiano e evitar qualquer outra contaminação.

ROTULAGEM

Identificar corretamente o recipiente destinado a esse tipo de água.

ALANINA
Alaninum



$C_3H_7NO_2$; 89,09
alanina; 00451
L-Alanina
[*56-41-7*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_3H_7NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +13,7 a +15,1, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 10% (p/v) em ácido clorídrico 6 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de alanina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias detectáveis pela ninidrina*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (4)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 2,5 g da amostra em água e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir 10 mL dessa solução para 20 mL com água. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e não mais intensamente corada que a *Solução de referência de cor* **(5.2.12)**, preparada como descrito a seguir.

Solução de referência de cor: misturar 2,4 mL de solução base de cloreto férrico, 1 mL de solução base de cloreto de cobalto II, 0,4 mL de solução base de sulfato cúprico e 6,2 mL de solução de ácido clorídrico 1% (v/v). Misturar 5 mL da solução obtida com 95 mL de ácido clorídrico 1% (v/v).

pH (5.2.19). 5,5 a 7,0. Determinar em solução a 5% (p/v).

Substâncias detectáveis pela ninidrina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel G, como suporte, e mistura de água, ácido acético glacial e

álcool butílico (20:20:60), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 10 mg/mL em água.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 50 mL com água.

Solução (3): diluir 5 mL da *Solução (2)* para 20 mL com água.

Solução (4): solução de alanina SQR a 0,2 mg/mL em água.

Solução (5): dissolver 10 mg de alanina SQR e 10 mg de glicina SQR em água e diluir para 25 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com ninidrina SR. Aquecer a placa a 105 ºC por 15 minutos e examinar imediatamente. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (5)* apresentar duas manchas principais nitidamente separadas.

Amônio. Preparar uma pequena câmara utilizando dois vidros de relógio de 60 mm de diâmetro, colocados bordo a bordo. Aderir à parede interior do vidro de relógio superior, por meio de algumas gotas de água, uma tira de papel de tornassol vermelho de 5 mm × 5 mm. No vidro inferior suspender 50 mg da amostra, finamente pulverizada, em 0,5 mL de água. Adicionar 0,3 g de óxido de magnésio, misturar rapidamente com um bastão de vidro e fechar a câmara juntando os dois vidros de relógio. Aquecer a 40 ºC por 15 minutos. O papel de tornassol não deve adquirir coloração azul mais intensa que a de uma tira de papel de tornassol vermelho de uma preparação realizada simultaneamente, e nas mesmas condições, com 0,1 mL de solução de cloreto de amônio a 0,0296% (p/v), 0,5 mL de água e 0,3 g de óxido de magnésio. No máximo 0,02% (200 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). No máximo 0,05% (500 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,003% (30 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,0015% (15 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). No máximo 0,03% (300 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa à temperatura entre 100 ºC e 105 ºC, por três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 80 mg da amostra e dissolver em 3 mL de ácido fórmico anidro. Adicionar 30 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente ou utilizar 0,1 mL de 1-naftolbenzeína SI até mudança de cor para verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 8,909 mg de $C_3H_7NO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

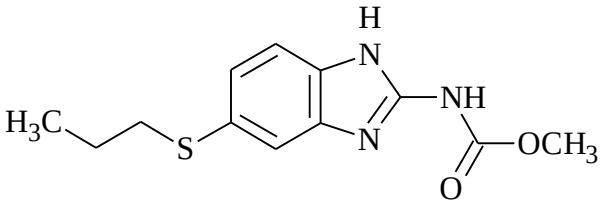
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Aminoácido.

ALBENDAZOL
Albendazolum



$C_{12}H_{15}N_3O_2S$; 265,33
albendazol; 00458
Éster metílico do ácido [6-(propiltio)-1*H*-benzimidazol-2-il]carbâmico
[*54965-21-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, untuoso ao tato, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico, facilmente solúvel em ácido fórmico anidro, solúvel em ácido acético glacial, muito pouco solúvel em álcool isopropílico. Muito pouco solúvel em ácido clorídrico 0,1 *M* e insolúvel em hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 208 ºC a 210 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de albendazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximos de absorção idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (4)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (1)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, éter etílico e ácido acético glacial (60:10:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 50 mg de albendazol SQR em ácido acético glacial e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com ácido acético glacial.

Solução (3): dissolver 100 mg da amostra em ácido acético glacial e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): diluir 5 mL da *Solução (3)* para 10 mL com ácido acético glacial.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a S*olução (3)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra, previamente dessecada, e dissolver em 30 mL de ácido acético glacial. Aquecer se necessário. Esfriar e adicionar cinco gotas de cloreto de metilrosanilínio SI. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, até coloração verde esmeralda. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 26,533 mg de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de amostra e dissolver em 25 mL de ácido clorídrico 2% (p/v) em álcool metílico. Completar o volume para 50 mL com água. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Diluir, sucessivamente, em hidróxido de sódio 0,1 *M*, até concentração de 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 309 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAGEM

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico.

ALBENDAZOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de albendazol para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 25 mL de ácido clorídrico 2% (v/v) em álcool metílico. Agitar por 10 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado até concentração de 0,001% (p/v) com o mesmo solvente. Preparar solução padrão utilizando albendazol SQR na mesma concentração. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução amostra, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar, transferir 10 mL para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Transferir 90 mg de albendazol SQR para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 10 mL de ácido clorídrico 2% (v/v) em álcool metílico e homogeneizar. Completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Medir as absorvâncias em 308 nm e 350 nm, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ dissolvido no meio, pela expressão: $22{,}5C\ (Aa/Ap)$, em que *C* é a concentração, em μg/mL, de albendazol na solução padrão e *Aa* e *Ap* são as diferenças entre as absorvâncias a 308 nm e 350 nm, obtidas para a solução amostra e para a solução padrão, respectivamente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de albendazol para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 25 mL de ácido clorídrico 2% (v/v) em álcool metílico. Agitar por 10 minutos, completar o volume com água destilada e filtrar. Diluir, sucessivamente, até a concentração de 0,0008% (p/v), utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M*, como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções em 308 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: solução de 0,5 g de fosfato de amônio monobásico em 1000 mL de mistura de água e álcool metílico (4:6).

Solução de padrão interno: pesar, com exatidão, cerca de 150 mg de parbendazol SQR. Transferir para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de ácido sulfúrico 1% (v/v) em álcool metílico e completar o volume com álcool metílico.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 mg de albendazol para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de ácido sulfúrico 1% (v/v) em álcool metílico e 20 mL de álcool metílico. Agitar por 15 minutos, completar o volume com álcool metílico e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 100 mg de albendazol SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de ácido sulfúrico 1% (v/v) em álcool metílico e completar o volume com álcool metílico. Transferir 5 mL dessa solução e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico.

A eficiência da coluna é, no mínimo, 4000 pratos teóricos/metro. A resolução entre albendazol e parbendazol é, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ na solução amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra* em relação à *Solução de padrão interno*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ALBENDAZOL SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$. Albendazol suspensão oral é uma mistura de albendazol com um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tamponantes, adoçantes e conservantes, em veículo aquoso.

IDENTIFICAÇÃO

Diluir volume adequado da suspensão em mistura de álcool metílico e ácido clorídrico (99:1) para obter concentração de 1 mg/mL. Filtrar, se necessário, transferir 1 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M* e homogeneizar. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução resultante, na faixa de 200 a 400 nm, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de albendazol SQR.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 5,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 308 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móve*l de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 11 g de fosfato de sódio monobásico em 800 mL de água e adicionar 1200 mL de álcool metílico.

Solução amostra: transferir volume da suspensão correspondente a 0,1 g de albendazol para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e ácido clorídrico (99:1). Diluir, sucessivamente, até a concentração de 100 µg/mL, utilizando *Fase móvel* como solvente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de albendazol SQR. Transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a mistura de álcool metílico e ácido clorídrico (99:1). Diluir, sucessivamente, até a concentração de 100 µg/mL, utilizando *Fase móvel* como solvente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 8000 pratos teóricos/metro. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ na suspensão oral, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

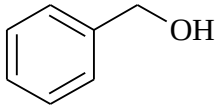
Em recipientes bem fechados, a temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁLCOOL BENZÍLICO

Alcohol benzylicus



C_7H_8O; 108,14
álcool benzílico; 00471
Benzenometanol
[*100-51-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de C_7H_8O.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido oleoso, límpido e incolor.

Solubilidade. Solúvel em água, miscível com álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 1,043 a 1,049 g/mL.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,538 a 1,541. Determinar a 20 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa entre placas de cloreto de sódio ou brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de álcool benzílico SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Limpidez da solução.

Solução de hidrazina: transferir 1 g de sulfato de hidrazina para balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com água. Homogeneizar. Deixar em repouso por quatro a seis horas.

Solução de metenamina: transferir 2,5 g de metenamina para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 25 mL de água e agitar até dissolver.

Suspensão opalescente primária: transferir 25 mL da *Solução de hidrazina* para o balão volumétrico de 100 mL contendo a *Solução de metenamina*, completar o volume com água e homogeneizar. Deixar em repouso por 24 horas (essa suspensão é estável por dois meses, se mantida em frasco de vidro fechado e sem defeitos. As partículas suspensas podem aderir ao vidro e devem ser redispersas por agitação antes do uso.)

Padrão de opalescência: transferir 15 mL da *Suspensão opalescente primária* para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar (essa solução não deve ser utilizada após 24 horas do preparo.)

Suspensões de referência: transferir 5 mL do *Padrão de opalescência* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar, para obter a *Suspensão de referência A*. Transferir 10 mL do *Padrão de opalescência* para outro balão volumétrico de 100 mL, completar com água e homogeneizar, para obter a *Suspensão de referência B*.

Solução amostra: dissolver 2 g da amostra em 60 mL de água.

Procedimento: transferir, separadamente, a mesma quantidade da *Solução amostra*, *Suspensão de referência A*, *Suspensão de referência B* e de água para tubos de vidro incolor e transparente, com diâmetro interno entre 15 mm e 25 mm, de forma a obter, aproximadamente, 40 mm de profundidade. Comparar as soluções, empregando fundo escuro e luz incidente. A difusão da luz deve ser tal que a *Suspensão de referência A* possa ser facilmente distinguida da água e que a *Suspensão de referência B* possa ser facilmente distinguida da *Suspensão de referência A.* A *Solução amostra* tem a mesma claridade da água ou não é mais opalescente que a *Suspensão de referência A*.

Cor da solução. Transferir, separadamente, a mesma quantidade da *Solução amostra*, obtida em *Limpidez da solução*, e de água para tubos de vidro incolor e transparente, com diâmetro interno entre 15 mm e 25 mm, de forma a obter, aproximadamente, 40 mm de profundidade. A *Solução amostra* tem a mesma coloração da água.

Substâncias relacionadas. 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 0,32 mm de diâmetro interno, de sílica fundida, preenchida com macrogol 20000, com espessura de filme de 0,5 μm. A temperatura do injetor deverá ser ajustada para 200 ºC, a temperatura do detector para 310 ºC e a temperatura da coluna programada para iniciar em 50 ºC, passando para 220 º°C durante 34 minutos, com incremento de 5 ºC por minuto e manter a 220 ºC durante 35 minutos (total: 69 minutos). Usar hélio purificado como gás de arraste, com velocidade linear de 25 cm/segundo.

Quando o álcool benzílico não se destinar ao uso em soluções parenterais, preparar as *Soluções (1), (2) e (3)*.

Quando o álcool benzílico se destinar ao uso em soluções parenterais, preparar as *Soluções (1), (2) e (4)*.

Solução amostra: substância a ser avaliada.

Solução (1): dissolver 0,10 g de etilbenzeno na *Solução amostra* e diluir para 10 mL com a mesma solução. Diluir 2,0 mL desta solução para 20 mL com a *Solução amostra*.

Solução (2): dissolver 2,0 g de diciclohexila na *Solução amostra* e diluir para 10 mL com a mesma solução. Diluir 2 mL desta solução para 20 mL com a *Solução amostra*.

Solução (3): dissolver 0,75 g de benzaldeído e 0,50 g de ciclohexilmetanol na *Solução amostra* e diluir para 25 mL com a mesma solução. Adicionar 1 mL desta solução a uma mistura de 2 mL da *Solução (1)* e 3 mL da *Solução (2)*, e diluir para 20 mL com a *Solução amostra*.

Solucão (4): dissolver 0,25 g de benzaldeído e 0,50 g de ciclohexilmetanol na *Solução amostra* e diluir para 25 mL com a mesma solução. Adicionar 1 mL desta solução a uma mistura de 2 mL da *Solução (1)* e 2 mL da *Solução (2)*, e diluir para 20 mL com a *Solução amostra*.

Injetar, sem o plugue de ar, replicatas de 0,1 µL da *Solução (3)* ou da *Solução (4)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,28 para etilbenzeno, 0,59 para diciclohexila, 0,68 para benzaldeído e 0,71 para ciclohexilmetanol, em relação ao álcool benzílico (tempo de retenção de aproximadamente 26 minutos). A resolução entre os picos de benzaldeído e ciclohexilmetanol obtidos com o cromatograma da *Solução (3)* ou da *Solução (4)* é, no mínimo, 3.

Procedimento: injetar, separadamente, sem o plugue de ar, 0,1 µL da *Solução amostra* e da *Solução (3)* ou da *Solução (4)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Se qualquer pico registrado no cromatograma obtido com a *Solução amostra* apresentar o mesmo tempo de retenção dos picos relativos ao etilbenzeno ou diciclohexil, fazer as correções necessárias, subtraindo as áreas obtidas com as *Soluções (3)* ou *(4)* daquelas obtidas com a *Solução amostra*. Quaisquer picos registrados no cromatograma obtido com a *Solução amostra* devem ser incluídos nas avaliações para a soma dos outros picos. Para o cálculo das impurezas, subtrair as áreas sob os picos obtidos com a *Solução (3)* ou *(4)* daquelas correspondentes obtidas com a *Solução amostra*.

Para o álcool benzílico não destinado ao uso parenteral, a área sob o pico do benzaldeído obtido com a *Solução amostra* não é maior que a diferença de área obtida com a *Solução (3)* (0,15%). A área sob o pico do ciclohexilmetanol obtido com a *Solução amostra* não é maior que a diferença de área obtida com a *Solução (3)* (0,10%). A soma dos outros picos com tempos de retenção relativos menores que o do álcool benzílico obtidos com a *Solução amostra* não é maior que quatro vezes a área corrigida sob o pico do etilbenzeno obtido com a *Solução (3)* (0,04%). A soma dos outros picos com tempos de retenção relativos maiores que o do álcool benzílico na *Solução amostra* não é maior que a área corrigida sob o pico do diciclohexil obtido com a *Solução (3)* (0,3%). Não considerar picos com área inferior a 0,01 vezes a área corrigida sob o pico do etilbenzeno no cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,0001%).

Para o álcool benzílico destinado ao uso parenteral, a área sob o pico do benzaldeído obtido com a *Solução amostra* não é maior que a diferença de área obtida com a *Solução (4)* (0,05%). A área sob o pico do ciclohexilmetanol obtido com a *Solução amostra* não é maior que a diferença de área obtida com a *Solução (4)* (0,10%). A soma dos outros picos com tempos de retenção relativos menores que o do álcool benzílico obtidos com a *Solução amostra* não é maior que quatro vezes a área corrigida sob o pico do etilbenzeno obtido com a *Solução (4)* (0,02%). A soma dos outros picos com tempos de retenção relativos maiores que o do álcool benzílico na *Solução amostra* não é maior que a área corrigida sob o pico do diciclohexil obtido com a *Solução (4)* (0,2%). Não considerar picos com área inferior a 0,01 vezes a área corrigida do pico do etilbenzeno no cromatograma obtido com a *Solução (4)* (0,0001%).

Acidez. Adicionar 1 mL de fenolftaleína SI a 50 mL de álcool etílico e neutralizar com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Dissolver 10 mL de amostra em 10 mL de álcool etílico neutralizado e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M*, até que a coloração rósea permaneça por, no mínimo, 30 segundos. No máximo, 1 mL é consumido.

Índice de peróxidos. Pesar, com exatidão, cerca de 5 g de amostra e transferir para um erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 30 mL de uma mistura de ácido acético glacial e clorofórmio (3:2), agitar e adicionar 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio. Agitar por um minuto e adicionar 30 mL de água. Titular lentamente com tiossulfato de sódio 0,01 *M* SV, sob agitação constante, até que a coloração amarela desapareça. Adicionar 5 mL de amido SI e continuar a titulação, sob agitação vigorosa, até que a coloração azul desapareça. Realizar ensaio em branco (o volume gasto no branco não deve exceder 0,1 mL). O valor de peróxidos é igual à diferença entre os volumes (mL) de tiossulfato de sódio gastos na amostra e no branco, multiplicado por 10 e dividido pela massa (g) da amostra. No máximo 5.

Limite de resíduos não voláteis. Evaporar 10 g da amostra, em banho-maria, e secar o resíduo a 105 ºC por uma hora. Esfriar em dessecador e pesar. O resíduo pesa, no máximo, 5 mg. São encontrados, no máximo, 0,05% de resíduos não voláteis.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,9 g da amostra, adicionar 15 mL de uma mistura recém-preparada de piridina e anidrido acético (7:1) e ferver em refluxo por 30 minutos. Resfriar, adicionar 25 mL de água e 0,25 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de sódio *M* SV. Realizar ensaio em branco. Calcular a porcentagem de C_7H_8O, segundo a expressão:

$$\frac{10{,}814(Vb - Va)}{Ma}$$

em que
Va = volume (mL) de titulante gasto para a amostra;
Vb = é o volume (mL) de titulante gasto para o branco;
Ma = massa (g) de álcool benzílico que foi titulada.
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

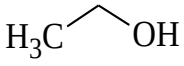
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local; antimicrobiano.

ÁLCOOL ETÍLICO

Alcohol ethylicus



C_2H_6O; 46,07
álcool etílico; 00475
Etanol
[*64-17-5*]

Contém, no mínimo, 95,1% (v/v), correspondendo a 92,55% (p/p), e, no máximo, 96,9% (v/v), correspondendo a 95,16% (p/p) de C_2H_6O a 20 ºC, calculado a partir da densidade relativa, empregando a tabela alcoométrica **(5.2.26)**. Para álcool etílico absoluto, contém, no mínimo, 99,5% (v/v) correspondendo a 99,18% (p/p) de C_2H_6O a 20 ºC, calculado a partir da densidade relativa, empregando a tabela alcoométrica **(5.2.26)**.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido incolor, límpido, volátil, inflamável e higroscópico.

Solubilidade. Miscível com água e com cloreto de metileno.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,805 a 0,812, determinada a 20 ºC. Para álcool etílico absoluto, no máximo, 0,793, determinada a 20 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de álcool etílico SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Limpidez da solução (5.2.25).

Solução de hidrazina: transferir 1 g de sulfato de hidrazina para um balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com água e agitar. Deixar em repouso por quatro a seis horas.

Solução de metenamina: transferir 2,5 g de metenamina para um balão volumétrico de 100 mL, adicionar 25 mL de água e agitar até dissolver.

Suspensão opalescente primária: transferir 25 mL da *Solução de hidrazina* para o balão volumétrico de 100 mL contendo a *Solução de metenamina*. Agitar e deixar em repouso por 24 horas (essa suspensão é estável por dois meses, se mantida em frasco de vidro fechado e sem defeitos. As partículas suspensas podem aderir ao vidro e devem ser redispersas por agitação antes do uso.)

Padrão de opalescência: transferir 15 mL da *Suspensão opalescente primária* para um balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e agitar (essa solução não deve ser utilizada após 24 horas do preparo).

Suspensões de referência: transferir 5 mL do *Padrão de opalescência* para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e agitar para obter a *Suspensão de referência A*. Transferir 10 mL do *Padrão de opalescência* para outro balão de 100 mL, completar com água e agitar para obter a *Suspensão de referência B*.

Solução amostra A: amostra a ser examinada.

Solução amostra B: diluir 1 mL da *Solução amostra A* para 20 mL de água e deixar em repouso por cinco minutos antes do uso.

Procedimento: transferir uma porção da *Solução amostra A* e da *Solução amostra B* para tubos de vidro incolor e transparente, com diâmetro interno entre 15 mm e 25 mm, de forma a obter aproximadamente 40 mm de profundidade. De maneira semelhante, transferir porções da *Suspensão de referência A, Suspensão de referência B* e água para diferentes tubos. Comparar a *Solução amostra A, Solução amostra B, Suspensão de referência A, Suspensão de referência B* e água, empregando fundo escuro e luz. O analista deve ser capaz de distinguir as opalescências obtidas com as *Suspensões de referência A* e *B.* A *Solução amostra A* e a *Solução amostra B* têm a mesma claridade da água ou não apresentam maior opalescência que a *Suspensão de referência A*.

Cor da solução (5.2.12).

Solução padrão estoque: combinar 3 mL de *Solução base cloreto férrico*, 3 mL de *Solução base cloreto de cobalto*, 2,4 mL de *Solução base sulfato cúprico* e 1,6 mL de ácido clorídrico diluído (10 mg/mL).

Solução padrão: transferir 1 mL da *Solução padrão estoque* para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com ácido clorídrico diluído (10 mg/mL) e agitar. Utilizar esta solução logo após o preparo.

Procedimento: transferir uma porção da *Solução padrão* para um tubo de vidro incolor e transparente com diâmetro interno entre 15 mm e 25 mm, de forma a obter aproximadamente 40 mm de profundidade. Transferir para um tubo semelhante o mesmo volume de amostra e para outro tubo a mesma quantidade de água. A *Solução amostra* tem a aparência de água ou não tem coloração mais intensa que a *Solução padrão*.

Acidez ou alcalinidade. Adicionar 20 mL de água isenta de dióxido de carbono a 20 mL da amostra e adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. A solução deve ser incolor. Adicionar 1,0 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*. A solução torna-se rosa (30 ppm, expresso como ácido acético).

Absorção de luz. Registrar o espectro de absorção no ultravioleta da amostra entre 200 nm e 400 nm, empregando cubeta de 1 cm de caminho óptico, utilizando água como branco. A amostra apresenta absorvância máxima de 0,08 em 240 nm, 0,06 entre 250 e 260 nm e 0,02 entre 270 e 340 nm.

Limite de resíduos não voláteis. Evaporar 100 mL de amostra em banho-maria e secar o resíduo a 105 ºC por uma hora. Esfriar em dessecador e pesar. O resíduo pesa, no máximo, 2,5 mg. No máximo 0,025%.

Impurezas orgânicas voláteis. 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 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fase estacionária ligada a cianopropilfenil (6%) e dimetilpolisiloxano (94%), com espessura de 1,8 µm; temperatura da coluna de 40 ºC a 240 ºC (40 ºC mantida durante 12 minutos após a injeção, aumentada a 240 ºC de 12 a 32 minutos e mantida a 240 ºC durante o período de 32 a 42 minutos), temperatura do injetor de 200 ºC e temperatura do detector de 280 ºC; utilizar hélio a 35 cm/s como gás de arraste e razão de *split* de 1:20; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Solução amostra A: amostra de álcool etílico a ser testada.

Solução amostra B: transferir 150 µL de 4-metilpentan-2-ol para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar.

Solução padrão A: transferir 100 µL de álcool metílico para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar.

Solução padrão B: transferir 50 µL de álcool metílico e 50 µL de acetaldeído para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar. Transferir 100 µL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar.

Solução padrão C: transferir 150 µL de acetal para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar. Transferir 100 µL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar.

Solução padrão D: transferir 100 µL de benzeno para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar. Transferir 100 µL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a amostra. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registraros cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a soma de todas quantidades de acetaldeído e acetal, expressos como acetaldeído, segundo a expressão:

$$\text{Acetaldeído (ppm)} = [(10 \times AE)/(AT - AE)] + [(30 \times CE)/(CT - CE)]$$

em que
AE = área sob o pico de acetaldeído obtido no cromatograma da *Solução amostra A*;
AT = área sob o pico de acetaldeído obtido no cromatograma da *Solução padrão B*;
CE = área sob o pico de acetal obtido no cromatograma da *Solução amostra A*;
CT = área sob o pico de acetal obtido no cromatograma da *Solução padrão C*.

Calcular a quantidade de benzeno segundo a expressão:

$$\text{Benzeno (ppm)} = (2BE)/(BT - BE)$$

em que
BE = área sob o pico de benzeno obtido no cromatograma da *Solução amostra A*;
BT = área sob o pico de benzeno obtido no cromatograma da *Solução padrão D*.

Desconsiderar quaisquer picos com área inferior a 0,03 vezes a área sob o pico correspondente ao 4-metilpentan-2-ol obtido no cromatograma da *Solução amostra B* (9 ppm). A área sob o pico correspondente ao álcool metílico obtido no cromatograma da *Solução amostra A* não pode ser maior que a metade da área sob o pico correspondente obtido no cromatograma da *Solução padrão A*. A quantidade de acetaldeído encontrada na *Solução amostra A* deve ser, no máximo, 10 ppm. A quantidade de benzeno encontrada na *Solução amostra A* deve ser, no máximo, 2 ppm. O total de impurezas obtidas no cromatograma da *Solução amostra B* não pode ser maior que a área correspondente ao pico de 4-metilpentan-2-ol, obtido no mesmo cromatograma.

DOSEAMENTO

Determinar a quantidade de C_2H_6O a 20 ºC, a partir da densidade relativa, empregando a tabela de alcoometria **(5.2.26)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ALOPURINOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_5H_4N_4O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda da solução padrão.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Misturar em gral quantidade de pó equivalente a 50 mg de alopurinol com 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Filtrar, acidificar o filtrado com ácido acético *M* e deixar em repouso durante 10 a 15 minutos. Filtrar, lavar o precipitado com porções de 3 mL de álcool etílico absoluto e, em seguida, com 4 mL de éter etílico anidro. Secar sob corrente de ar por 15 minutos e dessecar em estufa a 105 ºC por três horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observados no espectro de alopurinol SQR, preparado de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,01 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 250 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_5H_4N_4O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de alopurinol SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada conforme descrito a seguir. Transferir 20 mg de alopurinol SQR para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de 5 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, agitar mecanicamente por mais 10 minutos e completar o volume com o *Meio de dissolução.* Diluir sucessivamente com o mesmo meio até concentração adequada.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_5H_4N_4O$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 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: mistura de um volume de álcool metílico e nove volumes de fosfato de potássio monobásico a 0,125% (p/v).

Eluente B: mistura de três volumes de álcool metílico com sete volumes de fosfato de potássio monobásico a 0,125% (p/v).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 30	100 → 0	0 → 100	gradiente linear

Solução (1): agitar, com auxílio de banho de ultrassom, quantidade de pó dos comprimidos equivalente a 0,1 g de alopurinol com 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* durante um minuto. Em seguida, diluir para balão volumétrico de 200 mL com o *Eluente A* e filtrar.

Solução (2): diluir um volume da *Solução (1)* para 100 volumes com o *Eluente A*. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com o *Eluente A*.

Solução (3): dissolver, em *Eluente A*, 10 mg de 5-amino-1*H*-pirazol-4-carboxamida (*Alopurinol impureza A*) SQR, 5 mg de 5-formilamino-1*H*-pirazol-4-carboxamida (*Alopurinol impureza B*) SQR, 5 mg de 5-(4*H*-1,2,4-triazol-4-il)-1*H*-pirazol-4-carboxamida (*Alopurinol impureza C*) SQR, 5 mg de etil 5-amino-1*H*-pirazol-4-carboxilato (*Alopurinol impureza D*) SQR e 5 mg de etil 5-(formilamino)-1*H*-pirazol-4-carboxilato (*Alopurinol impureza E*) SQR. Adicionar 20 mL da *Solução (1)* e diluir, imediatamente, para 100 mL com *Eluente A*. Diluir 1 mL da solução resultante para 100 mL utilizando o mesmo solvente.

Injetar 20 µL da *Solução (3)*. Nas condições descritas para o teste, os tempos de retenção relativos são cerca de 0,55 para *Alopurinol impureza A*, 0,79 para *Alopurinol impurezas B* e *C*, 1,0 para alopurinol, 3,39 para *Alopurinol impureza D* e 3,61 para *Alopurinol impureza E*. O teste somente é válido se a resolução entre os picos correspondentes à *Alopurinol impureza A* e ao alopurinol é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)*, *(2)* e *(3)*. Registrar os cromatogramas por, no mínimo, cinco vezes o tempo de retenção do alopurinol. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, a área sob qualquer pico correspondente à *Alopurinol impureza A* não é maior que a área sob o pico correspondente obtido no cromatograma da *Solução (3)* (0,2%); a área sob qualquer pico duplo não resolvido correspondente às *Alopurinol impurezas B* e *C* não é maior que a área sob o pico duplo correspondente obtidono cromatograma da *Solução (3)* (0,2%); a área sob qualquer um dos picos correspondentes à *Alopurinol impureza D* ou à *Alopurinol impureza E* não é maior que a área sob os picos correspondentes obtidos no cromatograma da *Solução (3)* (0,1%); a área sob qualquer outro pico secundário não é maior que a área sob o pico relativo ao alopurinol no cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,1%); a soma das áreas sob qualquer pico secundário não é maior que três vezes a área sob o pico relativo ao alopurinol no cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,3%). Não considerar qualquer pico com área menor que 0,2 vezes a área sob o pico relativo ao alopurinol no cromatograma obtido com a *Solução (2)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,1 g de alopurinol para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 20 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, deixar em banho de ultrassom ou agitar mecanicamente durante 15 minutos. Completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 250 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_5H_4N_4O$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 563, em 250 nm.

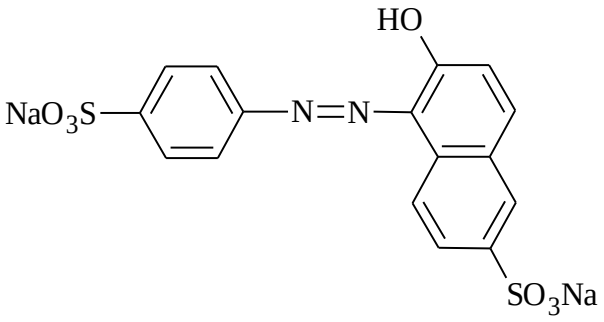
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMARELO CREPÚSCULO



$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$; 452,36

amarelo crepúsculo; 11240
Sal sódico do ácido 6-hidroxi-5-[2-(4-sulfofenil)diazenil]-2-naftalenossulfônico (2:1)
[*2783-94-0*]

Contém, no mínimo, 85% de $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, laranja avermelhado e higroscópico. Solução aquosa amarelo-alaranjada

Solubilidade. Solúvel em água, álcool etílico, álcool metílico e glicerol, insolúvel em éter etílico, acetona e óleo mineral. Pouco estável em presença de agentes redutores.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, de solução a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), há máximos em 481, 312, 234 e 211 nm e mínimos em 348, 286 e 218 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de amarelo crepúsculo SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água e hidróxido de amônio (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente à placa, 2 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): 0,25 g da amostra em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M.*

Solução (2): 0,05 g de amarelo crepúsculo SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M.*

Solução (3): diluir a *Solução (2)* de modo a obter uma solução a 0,25 mg/mL, com o mesmo diluente.

Solução (4): diluir a *Solução (1)* de modo a obter uma solução a 1,25 mg/mL, com o mesmo diluente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ambiente e luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).* As manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* não devem ser mais intensas do que aquelas obtidas com a *Solução (3)* (1%) e a *Solução (4)* (5%).

Alternativamente pode ser empregada mistura de álcool butílico, água, ácido acético glacial (20:12:5) como fase móvel. Em lugar de sílica-gel G pode ser usado papel cromatográfico, utilizando-se as condições anteriormente descritas e observando as manchas também por transparência.

Chumbo, cobre, estanho, zinco. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13)**. Pesar 2 g da amostra, usar cadinho de sílica e queimar, brandamente, sobre tela de amianto (± 350 ºC); levar à mufla durante 12 horas, sem ultrapassar a temperatura de 450 ºC. Remover o cadinho e resfriar. Misturar o resíduo com cerca de 2 mL de água e adicionar duas gotas de nitrato de magnésio a 50% (p/v). Secar sobre chapa elétrica e retornar à mufla durante três a quatro horas ou até que o resíduo esteja branco ou amarelado. Em seguida, resfriar, gotejar 1 a 2 mL de ácido nítrico, 1 mL de água e aquecer sobre chapa elétrica até quase secar. Dissolver os nitratos metálicos com 5 mL de água. Se necessário, centrifugar. Levar ao espectrômetro de absorção atômica, calibrado previamente e realizar a leitura da concentração de cada um dos metais. No máximo 0,001% (10 ppm) de chumbo, 0,002% (20 ppm) de cobre, 0,025% (250 ppm) de estanho e 0,005% (50 ppm) de zinco.

Cloretos e sulfatos. Para a determinação de cloretos, pesar 0,5 g da amostra, dissolver em 200 mL de água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, utilizando potenciômetro com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,85 mg de NaCl.

Para a determinação de sulfatos, pesar 0,5 g da amostra e dissolver em 100 mL de água em banho-maria. Adicionar 35 g de cloreto de sódio, isento de sulfatos, e agitar bem. Transferir para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com solução saturada de cloreto de sódio. Homogeneizar. Após uma hora, filtrar em papel de filtro e transferir alíquota de 100 mL do filtrado para béquer de 600 mL, diluir até 300 mL com água e acidificar com ácido clorídrico SR, adicionando leve excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v) ou até que não ocorra mais precipitação. Deixar em repouso durante quatro horas. Separar o sulfato de bário por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado e calcinar em mufla a 500 ºC durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos segundo a expressão:

$$\% \text{ sulfatos} = \frac{N \times 0{,}6085 \times 100}{p}$$

em que
N = massa em gramas de sulfato de bário;
p = massa em gramas da amostra usada na precipitação.

No máximo 5% de cloretos e sulfatos.

Substâncias insolúveis em água. Dissolver 5 g da amostra em 200 mL de água quente (80 ºC a 90 ºC) com agitação. Resfriar à temperatura ambiente. Filtrar em placa filtrante, previamente seca e pesada. Lavar com água fria até que as águas de lavagem se tornem incolores. Secar o filtro com o resíduo em estufa a 120 ºC durante quatro horas e pesar. No máximo 0,5%.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I.* Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,0001% (1 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo 0,004% (40 ppm).

DOSEAMENTO

Preparar solução da amostra conforme descrito em *Identificação* e determinar a absorvância no máximo de absorção, em cerca de 481 nm **(5.2.14)**. Calcular o teor da amostra segundo a expressão:

$$\frac{A \times 100}{564 \times p} = \%\ de\ amarelo\ crep\acute{u}sculo\ na\ amostra$$

em que
A = absorvância medida;
p = massa em gramas da amostra.
Alternativamente pode-se considerar A (1%, 1 cm) = 564 em 481 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

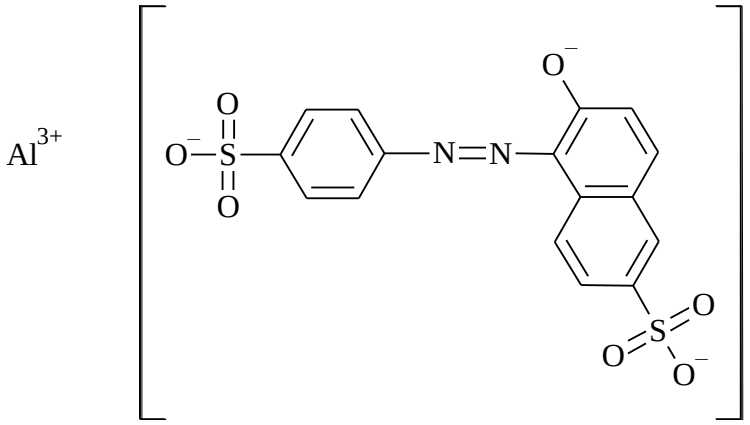
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

AMARELO CREPÚSCULO LACA DE ALUMÍNIO



$C_{16}H_9AlN_2O_7S_2$, 432,36
amarelo crepúsculo laca de alumínio; 11424
[*15790-07-5*]

Contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 105% do teor de $C_{16}H_9AlN_2O_7S_2$. Corante constituído principalmente do sal sódico do ácido 6-hidroxi-5-[2-(4-sulfofenil)diazenil]-2-naftalenossulfônico (2:1) - amarelo crepúsculo - sobre substrato de alumina.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, amarelo-alaranjado. É higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Solúvel em hidróxido de sódio *M*, porém o corante decompõe-se lentamente em pH alcalino.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, da solução amostra a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), previamente solubilizada em hidróxido de sódio *M*, há máximos em cerca de 481 nm, 312 nm, 234 nm e 211 nm e mínimos em 348 nm, 286 nm e 218 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de amarelo crepúsculo SQR.

B. Transferir 0,15 g da amostra para béquer de 60 mL e dissolver com cerca de 20 mL de ácido acético a 30% (p/v) quente, até que fique apenas opalescente. Esfriar e dividir a solução em dois tubos de ensaio. Adicionar a um deles 2 mL de solução de morina a 3 mg/mL em álcool etílico, recém preparado. Observar a fluorescência verde que se desenvolve sob a luz ultravioleta (254 nm), comparando com o tubo sem reativo.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)** utilizando sílica gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água e hidróxido de amônio (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente à placa, 2 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): 0,25 g da amostra em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*.

Solução (2): 0,05 g de amarelo crepúsculo SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* de modo a obter uma solução a 0,25 mg/mL, com o mesmo diluente.

Solução (4): diluir a *Solução (1)* de modo a obter uma solução a 1,25 mg/mL, com o mesmo diluente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ambiente e luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).* As manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* não devem ser mais intensas do que aquelas obtidas com a *Solução (3)* (1%) e a *Solução (4)* (5%).

Alternativamente pode ser empregada mistura de álcool butílico, água e ácido acético glacial (20:12:5) como fase móvel. Em lugar de sílica gel G pode ser usado papel cromatográfico, utilizando-se as condições anteriormente descritas e observando as manchas também por transparência.

Cloretos e sulfatos. Para a determinação de cloretos, pesar 10 g da amostra, agitar com 250 mL de água e deixar em contato por 30 minutos. Filtrar. Medir 50 mL do filtrado, equivalente a 2 g da amostra, diluir para 200 mL com água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, utilizando potenciômetro com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,85 mg de NaCl.

Para a determinação de sulfatos, medir outros 50 mL do filtrado, diluir a 300 mL com água, acidificar com ácido clorídrico SR e mais 1 mL de excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v). Deixar em repouso por quatro horas. Separar o sulfato de bário, por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado e calcinar em mufla a 500 ºC durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos, segundo expressão:

$$\% \text{ sulfatos} = \frac{N \times 0{,}6086 \times 100}{p}$$

em que
N = massa em gramas de sulfato de bário;
p = massa em gramas da amostra usada na precipitação.

No máximo 2% de cloretos e sulfatos.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar cerca de 0,5 g. Dessecar em estufa 120 ºC por quatro horas ou a 135 ºC por três horas. No máximo 20%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Pesar cerca de 0,1 g da amostra em cadinho previamente seco e pesado e incinerar a 800 ºC durante duas horas. Deve conter entre 40% e 55%.

DOSEAMENTO

Preparar solução da amostra conforme descrito no método **A.** em *Identificação* e determinar a absorvância no máximo de absorção, em cerca de 481 nm **(5.2.14)**. Calcular o teor da amostra, segundo a expressão:

$$\frac{A \times 100}{564 \times p} = \text{\% de amarelo crepúsculo na amostra em 481 nm}$$

em que
A = absorvância medida;
p = massa em gramas da amostra.

Alternativamente pode-se considerar A (1%, 1 cm) = 564, em 481 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, protegidos da luz.

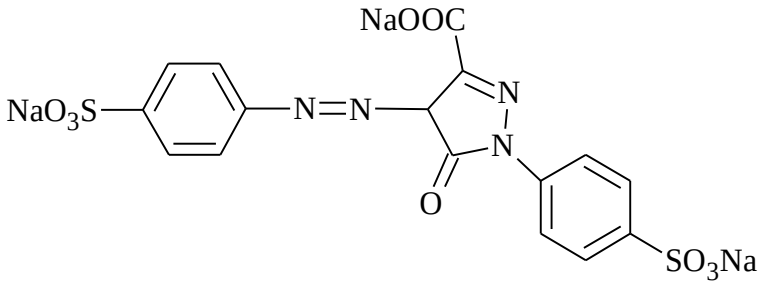
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

AMARELO DE TARTRAZINA



$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$; 534,36
amarelo de tartrazina; 11341
Sal sódico do ácido 4,5-di-hidro-5-oxo-1-(4-sulfofenil)-4-[2-(4-sulfofenil)diazenil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico (3:1)
[*1934-21-0*]

Contém, no mínimo, 85% de $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, laranja, brilhante e higroscópico. Solução aquosa amarelada.

Solubilidade. Solúvel em água, álcool metílico e glicerol. Pouco solúvel em álcool etílico. Insolúvel em éter etílico, acetona, óleo mineral e gorduras.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, de solução a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), há máximos em 426 nm, 257 nm e 203 nm e mínimos em 311 nm e 221 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de amarelo de tartrazina SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água e hidróxido de amônio (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas,descritas a seguir.

Solução (1): 0,25 g da amostra em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M.*

Solução (2): 0,05 g de amarelo de tartrazina SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M.*

Solução (3): diluir a *Solução (2)*, de modo a obter uma solução a 0,05 mg/mL, com o mesmo diluente.

Solução (4): diluir a *Solução (1)*, de modo a obter uma solução a 0,25 mg/mL, com o mesmo diluente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ambiente e luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).* As manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* não devem ser mais intensas do que aquelas obtidas com a *Solução (3)* (0,2%) e a *Solução (4)* (1%).

Alternativamente pode ser empregada mistura de álcool butílico, água e ácido acético glacial (20:12:5) como fase móvel. Em lugar de sílica-gel G pode ser usado papel cromatográfico, utilizando-se as condições anteriormente descritas e observando as manchas, também por transparência.

Chumbo, cobre, estanho, zinco. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13)**. Pesar 2 g da amostra, usar cadinho de sílica e queimar, brandamente, sobre tela de amianto (± 350 ºC); levá-lo à mufla durante 12 horas, sem ultrapassar a temperatura de 450 ºC. Remover o cadinho e resfriar. Misturar o resíduo com cerca de 2 mL de água e adicionar duas gotas de nitrato de magnésio a 50% (p/v). Secar sobre chapa elétrica e retornar à mufla durante três a quatro horas ou até que o resíduo esteja branco ou amarelado. Em seguida, resfriar, gotejar 1 a 2 mL de ácido nítrico, 1 mL de água e aquecer sobre chapa elétrica até quase secar. Dissolver os nitratos metálicos com 5 mL de água. Se necessário, centrifugar. Levar ao espectrômetro de absorção atômica, calibrado previamente, e realizar a leitura da concentração de cada um dos metais. No máximo 0,001% (10 ppm) de chumbo, 0,002% (20 ppm) de cobre, 0,025% (250 ppm) de estanho e 0,005% (50 ppm) de zinco.

Cloretos e sulfatos. Para a determinação de cloretos, pesar 0,5 g da amostra, dissolver em 200 mL de água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV utilizando potenciômetro com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,85 mg de NaCl.

Para a determinação de sulfatos, pesar 0,5 g da amostra e dissolver com 100 mL de água em banho-maria. Adicionar 35 g de cloreto de sódio, isento de sulfatos e agitar bem. Transferir para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com solução saturada de cloreto de sódio. Homogeneizar. Após uma hora, filtrar em papel de filtro e transferir alíquota de 100 mL do filtrado para béquer de 600 mL, diluir até 300 mL com água e acidificar com ácido clorídrico SR, adicionando leve excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v), ou até que não ocorra mais precipitação. Deixar em repouso durante quatro horas. Separar o sulfato de bário por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado e calcinar em mufla a 500 ºC durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos, segundo a expressão:

$$\% \text{ sulfatos} = \frac{N \times 0{,}6085 \times 100}{p}$$

em que
N = massa em gramas de sulfato de bário;
p = massa em gramas da amostra usada na precipitação.

No máximo 6% de cloretos e sulfatos.

Substâncias insolúveis em água. Dissolver 5 g da amostra em 200 mL de água quente (80 ºC a 90 ºC), com agitação. Resfriar à temperatura ambiente. Filtrar em placa filtrante, previamente seca e pesada. Lavar com água fria, até que as águas de lavagem sejam incolores. Secar o filtro com o resíduo em estufa a 120 ºC durante quatro horas e pesar. No máximo 0,5%.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Determinar em 3 g da amostra. No máximo 0,0001% (1 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo 0,004% (40 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Preparar solução da amostra conforme descrito em *Identificação* e determinar a absorvância do máximo de absorção, em cerca de 426 nm **(5.2.14)**. Calcular o teor da amostra, segundo a expressão:

$$\frac{A \times 100}{536{,}6 \times p} = \%\ \text{de amarelo de tartrazina na amostra}$$

em que
A = absorvância medida;
p = massa em gramas da amostra.

Alternativamente pode-se considerar A(1%, 1 cm) = 536,6 em 426 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

AMIDO
Amylum

amido; 00657
Amido
[*9005-25-8*]

O amido é obtido dos frutos, raízes e outras partes de diferentes vegetais. O amido de milho (*Zea mays* L., Poaceae), amido de arroz (*Oryza sativa* L., Poaceae), amido de trigo (*Triticum aestivum* L., Poaceae), amido de mandioca (*Manihot utilissima* Pohl, Euphorbiaceae) e amido de batata (*Solanum tuberosum* L., Solanaceae) são considerados oficinais. Amidos obtidos de diferentes origens botânicas podem não ter propriedades idênticas quando usados para fins farmacêuticos. Quimicamente, o amido é uma mistura de polímeros que corresponde à fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$. O amido de milho contém cerca de 27% de amilose e 73% de amilopectina.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, branco, inodoro e insípido. Quando examinado em camada fina, não deve apresentar impurezas visíveis ou sujidades.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água fria, álcool etílico e solventes orgânicos.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Amido de arroz (**Figura 1**)**.** Grãos muito pequenos, poliédricos, com ângulos agudos e arestas retas, comumente reunidos em grupos, com diâmetro de 2 µm a 10 µm (4 µm a 6 µm, em média). Os grãos arredondados são raros e o hilo frequentemente está ausente ou aparece como diminuta pontuação.

Amido de batata (**Figura 2**)**.** Grãos simples, irregularmente ovoides ou subesféricos, raramente agrupados aos pares ou trios, característicos. Os grãos ovoides são desigualmente alongados ou triangulares, de 30 µm a 100 µm de diâmetro. Os grãos subesféricos medem de 10 µm a 35 µm. O hilo é redondo, excentricamente disposto na parte mais estreita do grão, com estrias bem nítidas e concêntricas.

Amido de mandioca (**Figura 3**)**.** Os grãos variam de 25 µm a 35 µm de diâmetro, irregularmente arredondados, em forma de dedal, de esfera truncada em uma ou várias faces, com hilo pontuado, linear ou estrelado, central e bem nítido.

Amido de milho (**Figura 4**). Mistura de grãos de duas formas. Quando provenientes da periferia do albúmen são poliédricos, fortemente comprimidos, mostrando hilo arredondado, rachado ou estelar e medem, em média, de 14 µm a 20 µm de diâmetro. Quando oriundos da parte mais central do albúmen mostram contorno pouco anguloso, irregularmente arredondado e são alongados, ovoides ou piriformes e com o hilo maior; e medem, em média, 10 µm a 35 µm. Os grãos menores agrupam-se, por vezes, assemelhando-se a grãos compostos.

Amido de trigo (**Figura 5**)**.** Duas formas de grãos, nitidamente diferenciadas e quase sem formas intermediárias: grãos grandes, lenticulares, redondos, ovais e sub-reniformes, algumas vezes fendidos nos bordos; apresentam camadas concêntricas pouco distintas, assim como o hilo sob a forma de um ponto central ou uma simples linha; medem, em média, de 28 µm a 35 µm de diâmetro. Vistos de perfil são elípticos, alongados, quase fusiformes, sulcados por uma fenda, às vezes bastante larga. Os grãos menores são arredondados, facetados pela compressão mútua, medindo de 2 µm a 9 µm (5 µm a 7 µm, em média) de diâmetro. Também se apresentam em alguns grupos de dois a quatro grãos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Misturar 1 g da amostra com 2 mL de água fria. Verter sobre 15 mL de água em ebulição. Ferver, brandamente, durante dois minutos, sob agitação. Resfriar. Forma-se produto gelatinoso, claro e translúcido.

B. À mistura gelatinosa obtida no teste **A.** de *Identificação*, adicionar uma gota de iodo SR. Desenvolve-se coloração azul, que desaparece pela fervura e retorna pelo resfriamento.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0 para amido de milho e 5,0 a 8,0 para amido de batata. Determinar em 20 g da amostra. Transferir a amostra para frasco não metálico e adicionar 100 mL de água. Forma-se uma pasta. Agitar, continuamente, durante cinco minutos, à velocidade moderada.

Substâncias oxidantes. Transferir 4 g da amostra para erlenmeyer de 125 mL. Adicionar 50 mL de água. Tampar e agitar por cinco minutos. Transferir para tubo de centrífuga com capacidade de 50 mL e centrifugar. Transferir 30 mL do sobrenadante límpido para erlenmeyer de 125 mL, com rolha esmerilhada. Adicionar 1 mL de ácido acético glacial e 1 g de iodeto de potássio. Tampar, agitar e deixar em repouso durante 30 minutos, ao abrigo da luz direta. Adicionar 1 mL de amido SI e titular com tiossulfato de sódio 0,001 *M* SV até desaparecimento da cor azul. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,001 *M* SV equivale a 17 µg de oxidante, calculado como peróxido de hidrogênio. No máximo 2,8 mL de tiossulfato de sódio 0,001 *M* SV são consumidos (0,002%, calculados como H_2O_2).

Dióxido de enxofre. Misturar 20 g da amostra com 200 mL de água até obter suspensão homogênea. Filtrar. Adicionar a 100 mL do filtrado límpido, 3 mL de amido SI e titular com iodo 0,02 *M* SV até coloração azul permanente. No máximo 5,4 mL de iodo 0,02 *M* SV são consumidos (0,008%).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver o resíduo obtido no teste de *Resíduo por incineração* em 8 mL de ácido clorídrico, sob aquecimento suave. Diluir para 100 mL com água e homogeneizar. Transferir 25 mL para tubo de Nessler, adicionar 12 mL de água e proceder conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo 15,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2 g da amostra. No máximo 0,6%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados, protegidos da umidade. O rótulo deve indicar a procedência botânica.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacêutico.

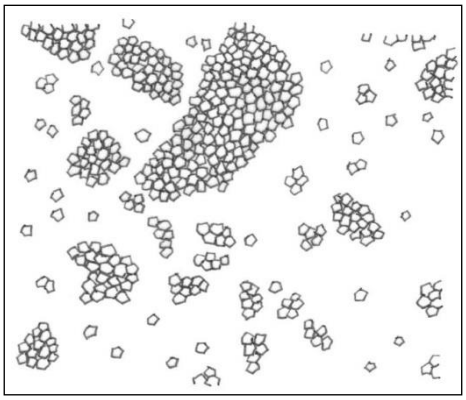


Figura 1 – Amido de arroz.

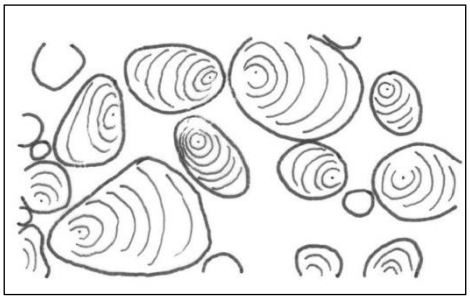


Figura 2 – Amido de batata.

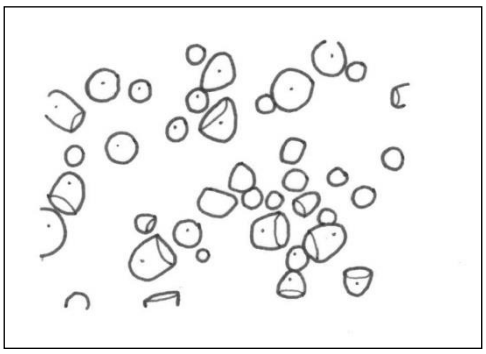


Figura 3 – Amido de mandioca.

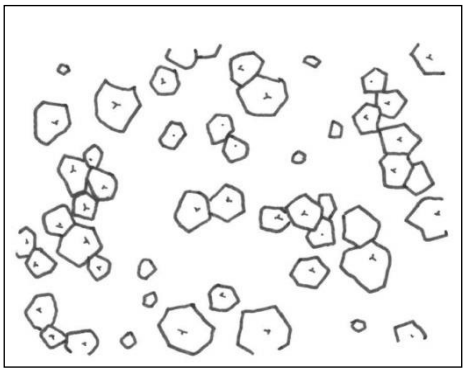


Figura 4 – Amido de milho.

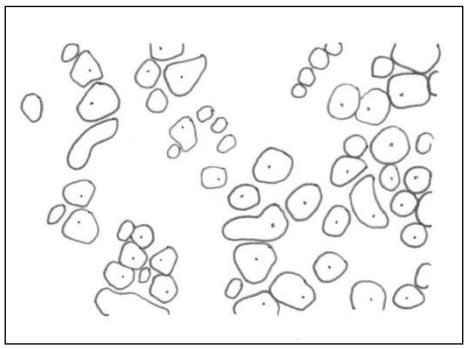
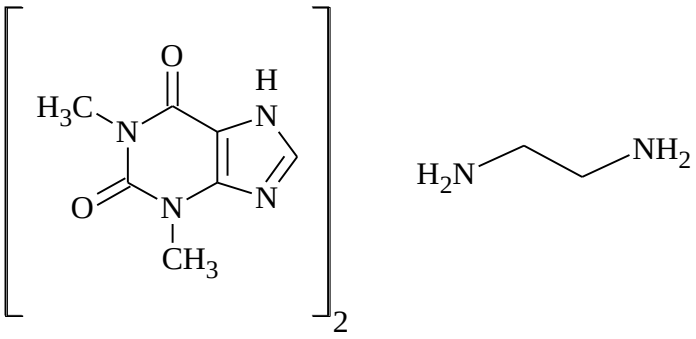


Figura 5 – Amido de trigo.

AMINOFILINA
Aminophyllinum



$(C_7H_8N_4O_2)_2.C_2H_8N_2$; 420,43
$C_7H_8N_4O_2$; 180,17
$C_2H_8N_2$; 60,10
aminofilina; 00685
3,9-Di-hidro-1,3-dimetil-1*H*-purina-2,6-diona com 1,2-etanodiamina (2:1)
[*317-34-0*]

Aminofilina é uma combinação de teofilina e etilenodiamina, que contém, no mínimo, 84,0% e, no máximo, 87,4% da quantidade declarada de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) e, no mínimo, 13,5% e, no máximo, 15,0% de etilenodiamina ($C_2H_8N_2$), em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou grânulos brancos ou levemente amarelados.

Solubilidade. Solúvel em água isenta de dióxido de carbono, praticamente insolúvel em álcool etílico absoluto.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do precipitado obtido no teste **B.** de *Identificação*, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da teofilina SQR, preparada de maneira idêntica.

B. Dissolver 0,5 g de amostra em 20 mL de água, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 3 *M*, com agitação constante. Filtrar e lavar o precipitado com pequenas porções de água fria. Secar a 105 ºC por uma hora. O precipitado obtido funde-se entre 270 ºC e 274 ºC.

C. Transferir 10 mg do precipitado dessecado, obtido no teste **B.** de *Identificação*, para cápsula de porcelana, adicionar 1 mL de ácido clorídrico e 0,1 g de cloreto de potássio. Evaporar em banho-maria até secura. Inverter a cápsula sobre um recipiente contendo algumas gotas de hidróxido de amônio 6 *M*. O resíduo adquire coloração púrpura, que desaparece com a adição de solução de hidróxido alcalino .

D. O precipitado obtido no teste **B.** de *Identificação* satisfaz às reações de xantina **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel $HF_{254,}$ como suporte, e mistura de solução concentrada de amônia, acetona, clorofórmio e álcool butílico (10:30:30:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra pulverizada em 2 mL de água isenta de dióxido de carbono e diluir para 10 mL com álcool metílico.

Solução (2): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha obtida no cromatograma da *Solução (1),* diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma da *Solução (2)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III.* No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 2 g da amostra. No máximo 1,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,15%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Etilenodiamina

Dissolver 0,25 g da amostra em 30 mL de água. Titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV utilizando 0,1 mL de verde de bromocresol SI como indicador, até viragem para verde. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV equivale a 3,005 mg de etilenodiamina ($C_2H_8N_2$).

Teofilina

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 200 mL de álcool metílico, 0,96 g de 1-pentanossulfonato de sódio monoidratado e completar o volume para 1000 mL com água. Ajustar o pH para 2,9 ± 0,1 com ácido acético glacial.

Diluente: mistura de água e álcool metílico (4:1).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 24 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com*Diluente* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de teofilina SQR, pesada com exatidão, em *Diluente* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 80 µg/mL.

Solução de resolução: preparar solução de teobromina SQR a 80 µg/mL utilizando *Solução padrão* como diluente. Transferir 20 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são de 0,65 para a teobromina e 1,0 para a teofilina. A resolução entre os picos de teofilina e teobromina é, no mínimo, 3,0. O fator de cauda para o pico da teofilina é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) na amostra, a partir das respostas obtidas para a teofilina com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Dessecar a amostra em estufa a 135 ºC até peso constante. Pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra, dissolver em 100 mL de água e aquecer, se necessário. Resfriar. Adicionar 20 mL de nitrato de prata 0,1 *M* e agitar. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando 1 mL de azul de bromotimol SI como indicador. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 18,016 mg de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Broncodilatador.

AMINOFILINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 80,6% e, no máximo, 90,8% de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) e, no mínimo, 10,9% de etilenodiamina ($C_2H_8N_2$), da quantidade declarada de aminofilina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade de pó equivalente a 0,5 g de aminofilina com 20 mL de água e filtrar. Adicionar ao filtrado, sob constante agitação, 1 mL de ácido clorídrico 2 *M*, deixar em repouso por alguns minutos e filtrar. Reservar o filtrado para o teste **C.** de *Identificação*. Lavar o resíduo com pequenas quantidades de água fria, recristalizar em água quente e secar em estufa a 105 ºC até peso constante. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de aminofilina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O resíduo obtido do teste **A.** de *Identificação* funde em torno de 271 ºC.

C. Ao filtrado reservado no teste **A.** de *Identificação*, adicionar 0,2 mL de cloreto de benzila, alcalinizar com hidróxido de amônio 5 *M* e agitar vigorosamente. Filtrar e lavar o resíduo com água fria, recristalizar em mistura de água e álcool etílico (10:30) e secar em estufa a 100 ºC até peso constante. Os cristais obtidos fundem-se em torno de 250 ºC.

D. Dissolver 10 mg do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação*, em 1 mL de ácido clorídrico. Adicionar 0,1 g de cloreto de potássio e evaporar até a secura. Obtém-se resíduo avermelhado, que se torna roxo sob a exposição de vapor de amônia.

E. Pesar e pulverizar os comprimidos. Misturar quantidade de pó equivalente a 0,25 g de aminofilina com 5 mL de água e filtrar. A 2 mL do filtrado, adicionar 2 mL de sulfato cúprico a 1% (p/v) e homogeneizar. Desenvolve-se coloração azul-escura.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 269 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular quantidade de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) dissolvida no meio,

comparando as leituras obtidas com a da solução de teofilina SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Etilenodiamina

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,3 g de aminofilina para erlenmeyer de 150 mL, dissolver em 20 mL de água e aquecer a 50 ºC por 30 minutos, agitando ocasionalmente. Titular com ácido sulfúrico 0,05 *M* SV, utilizando solução de verde de bromocresol SI como indicador, até a mudança de coloração para azul-esverdeada. Cada mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* SV equivale a 3,005 mg de etilenodiamina ($C_2H_8N_2$).

Teofilina

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar, a pó fino, 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 80 mg de aminofilina [$(C_7H_8N_4O_2)_2.C_2H_8N_2$] para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 20 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e 60 mL de água e agitar mecanicamente por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,01 *M* SV, obtendo concentração de 0,001% (p/v). Medir a absorvância da solução resultante em 275 nm, utilizando hidróxido sódio 0,01 *M* SV para ajuste do zero. Calcular a quantidade de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) nos comprimidos considerando A(1% 1 cm) = 650, em 250 nm, em hidróxido sódio 0,01 *M* SV.

B. Pesar e pulverizar, a pó fino, 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 2 g de aminofilina [$(C_7H_8N_4O_2)_2.C_2H_8N_2$] para balão volumétrico de 200 mL, com o auxílio de uma mistura de 50 mL de água e 15 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e deixar com agitação ocasional durante 30 minutos, aquecendo a 50 ºC se necessário, para dissolver a aminofilina. Esfriar a mistura à temperatura ambiente, se tiver sido aquecida. Completar o volume com água e homogeneizar. Centrifugar cerca de 50 mL da mistura, pipetar a porção clara do sobrenadante, equivalente a 250 mg de aminofilina, diluir com água, se necessário, para perfazer cerca de 40 mL e transferir para um erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 8 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e 20 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV. Aquecer à ebulição por 15 minutos. Esfriar entre 5 ºC e 10 ºC por 20 minutos e filtrar, preferencialmente em cadinho sob pressão reduzida. Lavar o precipitado com três porções de 10 mL de água. Acidificar o filtrado combinado e as lavagens com ácido nítrico e adicionar 3 mL do ácido. Esfriar, adicionar 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR e titular o excesso de nitrato de prata com tiocianato de amônio 0,1 *M* SV. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 18,016 mg de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$).

EMBALAGEM

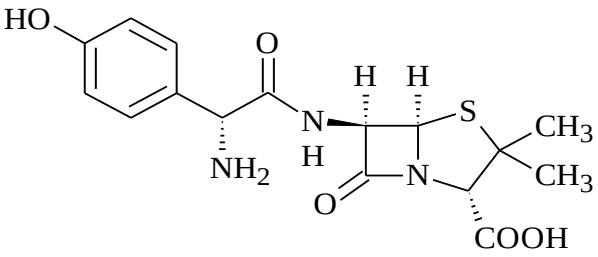
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMOXICILINA

Amoxicillinum



$C_{16}H_{19}N_3O_5S$; 365,40
amoxicilina; 00734
Ácido (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico
[*26787-78-0*]

$C_{16}H_{19}N_3O_5S.3H_2O$; 419,45
amoxicilina tri-hidratada; 00736
Ácido (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico hidratado (1:3)
[*61336-70-7*]

A potência é de, no mínimo, 900 μg e, no máximo, 1050 μg de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, álcool etílico e álcool metílico. Insolúvel em acetonitrila. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +290 a +315, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,2% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C**.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de amoxicilina tri-hidratada SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 a 400 nm, de solução a 0,002% (p/v), em álcool etílico, há máximos em 230 nm e em 274 nm, idênticos aos observados em solução similar de amoxicilina tri-hidratada SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtido no método **B.** de *Doseamento* corresponde àquele do pico principal da *Solução (2).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder como descrito no método **B.** de *Doseamento.* Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução teste: transferir, quantitativamente, cerca de 30 mg da amostra, para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com o *Eluente A* e homogeneizar. Preparar imediatamente antes do uso.

Solução referência: utilizar a *Solução (3)* descrita no método **B.** de *Doseamento*.

Solução branco: *Eluente A.*

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução teste*, *Solução referência* e da *Solução branco*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. Nenhum pico secundário no cromatograma obtido com a *Solução teste* possui área maior do que a área sob o pico principal obtido com a *Solução referência* (1,0%). Desconsiderar qualquer pico obtido no cromatograma da *Solução branco*.

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra, por meio de ajuste micrométrico.

pH (5.2.19). 3,5 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 0,2% (p/v).

Limite de *N,N*-dimetilanilina (5.3.2.13). No máximo, 20 ppm.

Água (5.2.20.1). 11,5% a 14,5%. Determinar em 0,3 g de amostra.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Amoxicilina destinada à preparação parenteral e quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os seguintes testes.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.. Dissolver 6 g da amostra em 800 mL de *Fluido II* contendo polisorbato 80 (5 mg/mL) e quantidade suficiente de penicilinase estéril, para inativar a amoxicilina. Agitar até total solubilização e empregar o *Método de inoculação direta*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,25 UE/mg de amoxicilina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Nota: *as diluições das Soluções padrão e amostra devem ser preparadas simultaneamente.*

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra pesada, com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL de amoxicilina. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Solução padrão: dissolver quantidade de amoxicilina tri-hidratada SQR, pesada com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL de amoxicilina. Diluir, sucessivamente, com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Calcular a potência da amostra, em μg de amoxicilina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluçõesamostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Solução tampão pH 5,0: dissolver 6,805 g de fosfato de potássio monobásico em 250 mL de água, ajustar o pH a 5,0 com de hidróxido de sódio SR e completar o volume para 1000 mL com água.

Eluente A: mistura de acetonitrila e *Solução tampão pH 5,0* (1:99)

Eluente B: mistura de acetonitrila e *Solução tampão pH 5,0* (20:80)

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – t	92	8	isocrática
t – (t + 25)	92 → 0	8 → 100	gradiente linear
(t + 25) - (t + 40)	0	100	isocrática
(t + 40) - (t + 55)	92	8	isocrática

t = tempo de retenção da amoxicilina determinado com a *Solução (3)*.

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 30 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o *Eluente A* e homogeneizar.

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 30 mg de amoxicilina SQR para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o *Eluente A* e homogeneizar.

Solução (3): diluir 2 mL da *Solução (2)* para 20 mL com o *Eluente A*. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (4): dissolver 4 mg de *cefadroxila SQR* no *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. A 5 mL desta solução adicionar 5 mL da *Solução (2)* e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (5): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 20 mL com o *Eluente A*. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (3)* em eluição isocrática para a determinação do tempo de retenção (t) da amoxicilina.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (4)* utilizando o sistema de gradiente. A resolução entre amoxicilina e cefadroxila é, no mínimo, 2. Se necessário, ajustar a proporção de *Eluente A* e *Eluente B* da *Fase móvel*.
Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (5)* utilizando o sistema gradiente. A relação sinal/ruído é superior a 3. Fazer ajustes, se necessário.

Se for necessário realizar ajustes na composição da *Fase móvel* para obter a resolução necessária, a composição ajustada deve ser aplicada desde o tempo inicial no gradiente para a realização do doseamento

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) por miligrama na amostra a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução (1)* e a *Solução (2)*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é no máximo 1%.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Preparar a solução padrão nas mesmas condições que a solução amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, em temperatura entre 15 ºC e 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

AMOXICILINA E CLAVULANATO DE POTÁSSIO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% das quantidades declaradas de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) e de clavulanato de potássio ($C_8H_8KNO_5$).

IDENTIFICAÇÃO

Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, 45 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em água até concentração adequada. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular as quantidades de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) e de clavulanato de potássio ($C_8H_8KNO_5$) dissolvidas no meio, comparando as respostas obtidas com as da solução de amoxicilina SQR e de clavulanato de lítio SQR nas concentrações de 0,05% (p/v) e 0,02% (p/v) respectivamente, preparadas no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 85% (Q) da quantidade declarada de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) e, no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de clavulanato de potássio ($C_8H_8KNO_5$) se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 7,5%, se a quantidade rotulada de amoxicilina for de até 250 mg. No máximo, 10,0%, se a quantidade rotulada de amoxicilina for maior que 250 mg e menor que 500 mg. No máximo, 11,0%, se a quantidade rotulada de amoxicilina for superior a 500 mg.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 220 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm a 10 µm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Tampão pH 4,4: dissolver 7,8 g de fosfato de sódio monobásico em 900 mL de água. Ajustar o pH para 4,4 ± 0,1 com ácido fosfórico ou hidróxido de sódio. Completar o volume para 1000 mL com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 4,4* e álcool metílico (95:5).

Solução amostra: dissolver no mínimo, 10 comprimidos em água, em balão de volume que resulte em concentração não superior, em amoxicilina, a 3 mg/mL, com agitação, durante 30 minutos. Filtrar ou centrifugar e diluir alíquota da solução límpida resultante, com água, até obter concentração de amoxicilina em 0,5 mg/mL. Utilizar esta solução em até uma hora.

Solução padrão: dissolver quantidades de amoxicilina SQR e de clavulanato de lítio SQR, pesadas com exatidão, em água, de modo a obter uma solução contendo 0,5 mg/mL e 0,2 mg/mL, respectivamente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna, determinada para cada analito, é, no mínimo, 550 pratos teóricos. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,5 para o ácido clavulânico e 1,0 para a amoxicilina. O fator de cauda para o pico de cada analito é, no máximo, 1,5. A resolução entre os picos de amoxicilina e ácido clavulânico é, no mínimo, 3,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular as quantidades de amoxicilina e clavulanato de potássio nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMOXICILINA E CLAVULANATO DE POTÁSSIO PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% das quantidades declaradas de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) e de clavulanato de potássio ($C_8H_8KNO_5$).

IDENTIFICAÇÃO

Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar na solução injetável, reconstituída conforme indicado no rótulo.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 8,0 a 10,0. Determinar na solução reconstituída contendo o equivalente a 10% (p/v) de amoxicilina.

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,5 g. No máximo 3,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Dissolver o conteúdo do frasco ampola em água para reagente LAL, de modo a obter uma solução a 10 mg/mL de amoxicilina. No máximo 2,5 UE/mL dessa solução.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Amoxicilina e clavulanato de potássio comprimidos*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: misturar os conteúdos de 10 unidades. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de amoxicilina para balão volumétrico de 200 mL, adicionar água até a solubilização e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Utilizar esta solução em até uma hora.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular as quantidades de amoxicilina e de clavulanato de potássio na solução injetável, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMOXICILINA E CLAVULANATO DE POTÁSSIO PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% das quantidades declaradas de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) e de clavulanato de potássio ($C_8H_8KNO_5$).

IDENTIFICAÇÃO

Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar na suspensão oral, reconstituída conforme indicado no rótulo.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 7,5%, se a quantidade rotulada de amoxicilina após reconstituição for de até 40 mg/mL. No máximo, 10,0%, se a quantidade rotulada de amoxicilina após reconstituição for maior que 40 mg/mL e menor que 50 mg/mL. No máximo, 11,0%, se a quantidade rotulada de amoxicilina, após reconstituição, for maior que 50 mg/mL e menor que 80 mg/mL. No máximo, 12,0%, se a quantidade rotulada de amoxicilina, após reconstituição, for superior a 80 mg/mL.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* da monografia de *Amoxicilina e clavulanato de potássio comprimidos*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: reconstituir o pó para suspensão oral conforme indicado no rótulo. Diluir quantitativamente um volume da suspensão em água, de modo a obter solução contendo 0,5 mg/mL de amoxicilina. Agitar mecanicamente por 10 minutos e filtrar. Utilizar esta solução em até uma hora.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular as quantidades de amoxicilina e de clavulanato de potássio na suspensão oral, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMOXICILINA TRI-HIDRATADA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$. As cápsulas de amoxicilina tri-hidratada são constituídas de amoxicilina tri-hidratada, com ou sem, um ou mais, agentes lubrificantes, diluentes e secantes adequados, incluídos em cápsulas de gelatina.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,02% (p/v) em álcool etílico, há máximos em 230 nm e em 274 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de amoxicilina tri-hidratada SQR.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G 60, como suporte, e mistura de álcool metílico, clorofórmio, água e acetona (9:8:3:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções descritas a seguir, que devem ser usadas, no máximo, 10 minutos após sua preparação.

Solução (1): solução da amostra contendo 0,4% (p/v) de amoxicilina tri-hidratada em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Solução (2): solução a 0,4% (p/v) de amoxicilina tri-hidratada SQR em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e nebulizar com ninidrina SR. Aquecer em estufa a 110 ºC por 15 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 90 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 272 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de amoxicilina tri-hidratada SQR na concentração de 0,01% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ se dissolvem em 90 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,3 g da amostra. No máximo 14,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção dos micro-organismos; solução salina estéril, para a padronização do inóculo; meio de cultura nº 11, para a camada base e camada de inóculo na placa.

Solução amostra: remover o conteúdo das cápsulas e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de amoxicilina para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e agitar por cerca de 30 minutos. Transferir 1 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Solução 2* (*Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Solução padrão: pesar quantidade de amoxicilina tri-hidratada SQR equivalente a 25 mg de amoxicilina, transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água. Transferir 1 mL da solução obtida para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Procedimento: adicionar 21 mL de meio de cultura nº 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 4 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em mg de amoxicilina por cápsula, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Remover o conteúdo das cápsulas e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para frasco volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de amoxicilina a 2,00 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, em temperatura entre 15 ºC e 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMOXICILINA TRI-HIDRATADA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$. A amoxicilina tri-hidratada empregada na produção cumpre as especificações descritas na monografia de *Amoxicilina*.Amoxicilina tri-hidratada pó para suspensão oral é uma mistura de um ou mais agentes adequados para suspensão, contendo ou não corantes, aromatizantes, conservantes, tampões, adoçantes e estabilizantes.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G 60 como suporte e mistura de álcool metílico, clorofórmio, água e acetona (9:8:3:1) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa 5 µL de cada uma das soluções descritas a seguir, que devem ser usadas, no máximo, 10 minutos após sua preparação.

Solução (1): solução da amostra contendo 0,4% (p/v) de amoxicilina tri-hidratada em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Solução (2): solução a 0,4% (p/v) de amoxicilina tri-hidratada SQR em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e nebulizar com ninidrina SR. Aquecer em estufa a 110 ºC por 15 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste para *Produtos líquidos em recipientes para doses múltiplas*. Determinar na suspensão reconstituída, conforme indicado no rótulo.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,5. Determinar na suspensão reconstituída, conforme indicado no rótulo.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 3,0%. Determinar em 0,3 g da amostra.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio n° 1, para manutenção dos micro-organismos; solução salina estéril, para a padronização do inóculo e meio n° 11, para a camada base e camada de inóculo na placa.

Solução amostra: transferir o equivalente a 250 mg de amoxicilina para um balão volumétrico de 250 mL. Completar o volume com água e agitar por cerca de 30 minutos. Transferir 1 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0)* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Solução padrão: pesar quantidade de amoxicilina tri-hidratada SQR equivalente a 25 mg de amoxicilina e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 1 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0)* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Procedimento: adicionar 21 mL de meio de cultura nº 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 4 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em mg de amoxicilina por mililitro, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Reconstituir o conteúdo de 10 unidades, conforme indicado no rótulo. Misturar e homogeneizar o conteúdo dos frascos. Transferir quantidade, medida com exatidão, da suspensão oral reconstituída para frasco volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de amoxicilina a 2,00 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

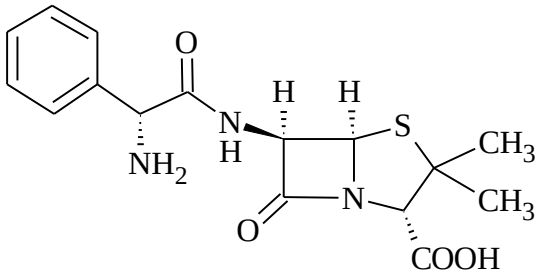
Em recipientes perfeitamente fechados, em temperatura entre 15 ºC e 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA

Ampicillinum



$C_{16}H_{19}N_3O_4S$; 349,41
ampicilina; 00738
Ácido (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]- 3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2- carboxílico
[*69-53-4*]

$C_{16}H_{19}N_3O_4S.3H_2O$; 403,45
ampicilina tri-hidratada; 00742
Ácido (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico hidratado (1:3)
[*7177-48-2*]

A potência é de, no mínimo, 960 μg e, no máximo, 1005 μg de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a levemente amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e álcool metílico, praticamente insolúvel em álcool etílico absoluto. Solúvel em soluções ácidas e alcalinas diluídas.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 199 ºC a 202 ºC, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +280 a +305, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,25% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ampicilina SQR ou de ampicilina tri-hidratada SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtido no método **C.** de *Doseamento* corresponde àquele do pico principal da *Solução (3).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder como descrito no método **C.** de *Doseamento.* Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução teste: dissolver quantidade de amostra equivalente a 27,0 mg de ampicilina em *Eluente A* e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. Preparar imediatamente antes do uso.

Solução referência: diluir 1,0 mL da *Solução (2),* descrita no método **C.** de *Doseamento,* para 20 mL com o *Eluente A.*

Solução branco: *Eluente A.*

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução teste*, *Solução referência* e da *Solução branco,* registrar os cromatogramas e medir as áreas de todos os picos obtidos. Nenhum pico secundário no cromatograma obtido com a *Solução teste* possui área maior do que a área do pico principal obtido com a *Solução referência* (1,0%). Desconsiderar qualquer pico obtido no cromatograma do branco.

pH (5.2.19). 3,5 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral. Transferir para lâmina de vidro e examinar em microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra, por meio de ajuste micrométrico.

Limite de *N,N*-dimetilanilina (5.3.2.13). Utilizar o *Método II***.** No máximo, 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Para a forma anidra, no máximo 2,0% e para a forma hidratada de 12 a 15%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Ampicilina destinada à produção de preparações parenterais cumpre com os seguintes testes.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Dissolver 6 g da amostra em 800 mL de *Fluido II* contendo quantidade suficiente de β-lactamase, para inativar a ampicilina, agitar até total solubilização e proceder conforme descrito em *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,15 UE/mg de ampicilina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Nota: *as diluições das Soluções padrão e amostra para a curva padrão devem ser preparadas simultaneamente.*

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0),* de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Solução padrão: dissolver quantidade de ampicilina SQR, pesada com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a potência da amostra, em µg de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Preparar a solução padrão nas mesmas condições que a solução amostra.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Eluente A: mistura de ácido acético diluído, fosfato de potássio monobásico 0,2 *M*, acetonitrila e água (0,5:50:50:899,5).

Eluente B: mistura de ácido acético diluído, fosfato de potássio monobásico 0,2 *M*, acetonitrila e água (0,5:50:400:549,5).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – t	85	15	isocrática
t – (t + 30)	85 → 0	15 → 100	gradiente linear
(t + 30) - (t + 45)	0	100	isocrática
(t + 45) - (t + 60)	85	15	isocrática

t = tempo de retenção da ampicilina determinado com a *Solução (2)*.

Solução (1): dissolver quantidade de amostra equivalente a 27,0 mg de ampicilina em *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 27,0 mg de ampicilina anidra SQR em *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): dissolver 2,0 mg de *cefradina SQR* no *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. A 5,0 mL desta solução adicionar 5,0 mL da *Solução (2)*.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (2)* em eluição isocrática para a determinação do tempo de retenção (t) da ampicilina.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (3)* utilizando o sistema gradiente. A resolução entre ampicilina e cefradina é, no mínimo, 3. Se necessário ajustar a proporção de *Eluente A* e *Eluente B* da *Fase móvel*.

Se for necessário realizar ajustes na composição da *Fase móvel* para obter a resolução necessária, a composição ajustada deve ser aplicada desde o tempo inicial no gradiente para a realização do doseamento.

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) por miligrama na amostra a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução (1)* e a *Solução (2)*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, em temperatura inferior a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

AMPICILINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ampicilina*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Agitar quantidade de pó equivalente a 0,125 g de ampicilina com bicarbonato de sódio a 4,2% (p/v) e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Filtrar.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em tampão sulfato cúprico, até concentração adequada. Transferir 10 mL para tubo de ensaio com tampa, aquecer em banho-maria a 75 ºC por 30 minutos e resfriar rapidamente. Medir as absorvâncias das soluções em 320 nm **(5.2.14)**, utilizando alíquota do meio de dissolução diluída em tampão sulfato cúprico, sem aquecimento, para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de ampicilina SQR na concentração de 0,0022% (p/v), preparada nas mesmas condições.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 4%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos difusão em ágar* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Nota: *as diluições da Solução padrão e da Solução amostra devem ser preparadas simultaneamente.*

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico e diluir com água estéril, de modo a obter solução de ampicilina a 0,1 mg/mL. Agitar por três a cinco minutos. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Solução padrão: dissolver quantidade de ampicilina SQR, pesada com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade em mg de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ nas cápsulas, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, entre 15 ºC e 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ampicilina*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,125 g de ampicilina com bicarbonato de sódio a 4,2% (p/v) e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Filtrar.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em tampão sulfato cúprico até concentração adequada. Transferir 10 mL para tubo de ensaio com tampa, aquecer em banho-maria a 75 ºC por 30 minutos e resfriar rapidamente. Medir as absorvâncias das soluções em 320 nm **(5.2.14)**, utilizando alíquota do meio de dissolução diluída em tampão sulfato cúprico, sem aquecimento, para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de ampicilina SQR na concentração de 0,0022% (p/v), preparada nas mesmas condições.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 4,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3**) pelo método de difusão em ágar.

Nota: *as diluições das Soluções padrão e amostra para a curva padrão devem ser preparadas simultaneamente.*

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico e diluir com água estéril, de modo a obter solução de ampicilina a 0,1 mg/mL. Agitar durante três a cinco minutos. Diluir sucessivamente, com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Solução padrão: dissolver quantidade de ampicilina SQR, pesada com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade em mg de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ nos comprimidos, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico, adicionar água, agitar durante três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da umidade, em temperatura inferior a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$). Ampicilina pó para suspensão oral é a mistura de ampicilina com um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tamponantes, edulcorantes e conservantes.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ampicilina*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): reconstituir a suspensão oral conforme indicado no rótulo. Agitar quantidade da suspensão oral, equivalente a 0,125 g de ampicilina, em solução de bicarbonato de sódio a 4,2% (p/v) e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Filtrar.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste para *Produtos líquidos em recipientes para doses múltiplas*. Determinar na suspensão reconstituída conforme indicado no rótulo.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,5. Determinar na suspensão reconstituída conforme indicado no rótulo.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó não reconstituído.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste para sólidos acondicionados em recipientes para dose única.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 2,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** pelo método de difusão em ágar.

Nota: *as diluições da Solução padrão e da Solução amostra devem ser preparadas simultaneamente.*

Solução amostra: reconstituir a suspensão conforme indicado no rótulo. Transferir quantidade da suspensão, medida com exatidão, para balão volumétrico e diluir com água estéril, de modo a obter solução de ampicilina a 0,1 mg/mL. Agitar por três a cinco minutos. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva analítica.

Solução padrão: dissolver quantidade de ampicilina SQR, pesada com exatidão, em água estéril, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir sucessivamente com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0),* de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva analítica.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade em mg de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ na suspensão oral, reconstituída a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10).** Reconstituir o conteúdo de 10 unidades, conforme indicado no rótulo. Misturar e homogeneizar o conteúdo dos frascos. Transferir quantidade da suspensão oral reconstituída, medida com exatidão, para balão volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

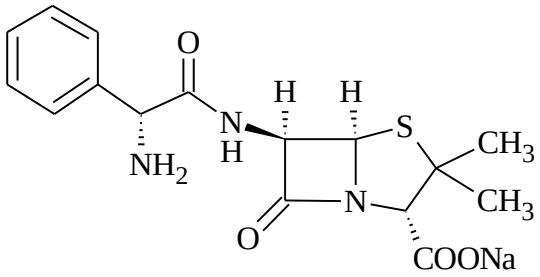
Em recipientes bem fechados, protegidos da umidade, em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA SÓDICA

Ampicillinum natricum



$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$; 371,39
ampicilina sódica; 00741
Sal sódico do ácido (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico (1:1)
[*69-52-3*]

A potência é de, no mínimo, 856 µg e, no máximo, 960 µg de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) por miligrama, calculado em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco, higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito solúvel em água.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +258 a +287, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,25% (p/v) tendo como solvente, solução de biftalato de potássio a 0,4% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ampicilina sódica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtido no método **C.** de *Doseamento* corresponde àquele do pico principal da *Solução (3).*

C. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento.* Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução teste: dissolver 31,0 mg da amostra em *Eluente A* e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. Preparar imediatamente antes do uso.

Solução referência: diluir 1,0 mL da *Solução (2),* descrita no método **C.** de *Doseamento*, para 20 mL com o *Eluente A*.

Solução branco: *Eluente A.*

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução teste*, *Solução referência* e da *Solução branco*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. Nenhum pico secundário no cromatograma obtido com a *Solução teste* possui área maior do que a área sob o pico principal obtido com a *Solução referência* (1,0%). Desconsiderar qualquer pico obtido no cromatograma do branco.

pH (5.2.19). 8,0 a 10,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Água (5.2.20.1). No máximo 2,0%.

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar, por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra, por meio de ajuste micrométrico.

Limite de *N,N*-dimetilanilina (5.3.2.13). Utilizar o *Método II***.** No máximo, 0,002% (20 ppm).

Cloreto de metileno. Proceder conforme descrito em *cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna de vidro de1,5 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com suporte de diatomáceas silanizado (partículas de até 120 µm), lavado com ácido, revestido com macrogol 1000 a 10% (p/p), temperatura da coluna de 60 ºC; temperatura do injetor de 100 ºC; temperatura do detector de 150 ºC; nitrogênio como gás de arraste; fluxo de 40 mL/minuto.

Solução de padrão interno: solução aquosa de cloreto de etileno a 0,2% (v/v).

Solução padrão: transferir 1 mL de solução aquosa de cloreto de metileno a 0,2% (v/v) para balão volumétrico de 10 mL. Acrescentar 1 mL da *Solução de padrão interno*, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução amostra: dissolver 1 g da amostra em água e transferir para balão volumétrico de 10 mL. Adicionar 1,0 mL da *Solução de padrão interno*, completar o volume com água e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e calcular a porcentagem (p/p) de cloreto de metileno, considerando como 1,325 g/mL o valor da densidade a 20 ºC. No máximo, 0,2% (p/p).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Ampicilina sódica destinada à preparação parenteral ee quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os seguintes testes.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Empregar *Método de filtração em membrana*. Dissolver 6 g da amostra em 800 mL de *Fluido II* contendo quantidade suficiente de penicilinase estéril, para inativar a ampicilina, agitar até total solubilização e proceder como descrito.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,15 UE/mg de ampicilina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar. Dissolver, separadamente, ampicilina sódica SQR e amostra em água estéril, de modo a obter solução na concentração de 0,1 mg/mL cada. Diluir as soluções obtidas, em Solução 2 (*Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, para obter as concentrações empregadas na curva padrão. Calcular a potência da amostra, em µg de ampicilina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Preparar a solução padrão nas mesmas condições que a solução amostra.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Eluente A: mistura de ácido acético diluído, fosfato de potássio monobásico 0,2 *M*, acetonitrila e água (0,5:50:50:899,5).

Eluente B: mistura de ácido acético diluído, fosfato de potássio monobásico 0,2 *M*, acetonitrila e água (0,5:50:400:549,5).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – t	85	15	isocrática
t – (t + 30)	85 → 0	15 → 100	gradiente linear
(t + 30) - (t + 45)	0	100	isocrática
(t + 45) - (t + 60)	85	15	isocrática

t = tempo de retenção da ampicilina determinado com a *Solução (2)* .

Solução (1): dissolver 31,0 mg da amostra em *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 31,0 mg de ampicilina sódica SQR em *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): dissolver 2,0 mg de *cefradina SQR* no *Eluente A* e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. A 5,0 mL desta solução adicionar 5,0 mL da *Solução (2)*.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (2)* em eluição isocrática para a determinação do tempo de retenção (t) da ampicilina.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (3)* utilizando o sistema gradiente. A resolução entre ampicilina e cefradina é, no mínimo, 3. Se necessário ajustar a proporção de *Eluente A* e *Eluente B* da *Fase móvel*.

Se for necessário realizar ajustes na composição da *Fase móvel* para obter a resolução necessária, a composição ajustada deve ser aplicada desde o tempo inicial no gradiente para a realização do doseamento

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) por miligrama na amostra a partir do teor do padrão, das respostas obtidas com a *Solução (1)* e a *Solução (2)*, e dividir o resultado pelo fator 1,063. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, a temperatura inferior a 30 ºC. Sendo destinado à produção de formas farmacêuticas injetáveis, deverá ser embalado em recipientes estéreis.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

AMPICILINA SÓDICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* na monografia *Ampicilina sódica.*

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 8,0 a 10,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Determinação do peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Empregar o *Método de filtração em membrana*. Dissolver 6 g da amostra em 800 mL de *Fluido II*, contendo quantidade suficiente de penicilinase estéril para inativar a ampicilina, agitar até total solubilização e proceder como descrito.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,15 UE/mg de ampicilina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar. Reconstituir o conteúdo de 10 frascos conforme indicado no rótulo. Dissolver, separadamente, padrão e amostra em água estéril, de modo a obter solução na concentração de 0,1 mg/mL. Diluir, separadamente, solução padrão e amostra, em *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, às concentrações empregadas na obtenção da curva padrão. Calcular a potência da amostra, em μg de ampicilina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Reconstituir o conteúdo de 10 frascos conforme indicado no rótulo. Misturar e homogeneizar o conteúdo dos frascos. Transferir quantidade, medida com exatidão, da suspensão reconstituída para frasco volumétrico, adicionar água e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA TRI-HIDRATADA CÁPSULAS

Contém ampicilina tri-hidratada equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ampicilina*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Agitar quantidade do pó em solução de bicarbonato de sódio a 4,2% (p/v) e diluir com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) a 2,5 mg/mL. Filtrar.

B. Pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de ampicilina para béquer, adicionar 1 mL de água e 2 mL de mistura de tartarato cúprico alcalino SR e água (2:6). Desenvolve-se, imediatamente, coloração violeta.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em tampão sulfato cúprico, até concentração adequada. Transferir alíquota de 10 mL para tubo de ensaio com tampa, submeter a aquecimento em banho-maria a 75 ºC por 30 minutos e resfriar rapidamente. Medir as absorvâncias das soluções em 320 nm **(5.2.14)**, utilizando meio de dissolução (água) em tampão sulfato cúprico na mesma proporção empregada no preparo das soluções amostra e solução padrão.sem aquecimento, para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas, com a da solução de ampicilina SQR na concentração de 0,0022% (p/v), preparada nas mesmas condições.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). 10,0% a 15,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)** para a *ampicilina*.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico, adicionar *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) a 0,1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até a faixa de concentração da curva padrão.

Solução padrão: dissolver quantidade de ampicilina SQR, pesada com exatidão, em água estéril e diluir com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, em *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* até a faixa de concentração da curva padrão.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade em mg de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) nas cápsulas, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, em temperatura inferior a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA TRI-HIDRATADA COMPRIMIDOS

Contém ampicilina tri-hidratada equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ampicilina.* Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó em solução de bicarbonato de sódio a 4,2% (p/v) e diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) a 2,5 mg/mL. Filtrar.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de ampicilina para béquer e prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Ampicilina tri-hidratada cápsulas*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com tampão sulfato cúprico até concentração adequada. Prosseguir conforme descrito em *Teste de dissolução* na monografia de *Ampicilina tri-hidratada cápsulas*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). 9,5% a 12%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** para *Ampicilina*, pelo método de difusão em ágar.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico, adicionar *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) a 0,1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente até as concentrações da curva padrão.

Solução padrão: dissolver quantidade de ampicilina SQR, pesada com exatidão, em água estéril e diluir com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, em *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* até a faixa de concentração da curva padrão.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade em mg de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) nos comprimidos, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, para balão volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, protegidos da umidade, em temperatura inferior a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AMPICILINA TRI-HIDRATADA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$. O pó para suspensão oral contém um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tamponantes, edulcorantes e conservantes.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica G, como suporte, e mistura de acetona, água, tolueno e ácido acético glacial (650:100:100:25), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra contendo 5 mg/mL de ampicilina, em mistura de acetona e ácido clorídrico 0,1 *M* (4:1).

Solução (2): solução a 5 mg/mL de ampicilina SQR, em mistura de acetona e ácido clorídrico 0,1 *M* (4:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com ninidrina 0,3% (p/v) em álcool etílico. Secar em estufa a 90 ºC durante 15 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação do volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar na suspensão oral reconstituída, conforme indicado no rótulo.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,5. Determinar na suspensão oral reconstituída, conforme indicado no rótulo.

Determinação do peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.2). No máximo 2,5% em amostra contendo 50 mg/mL de ampicilina após a reconstituição ou no máximo 5,0% em amostra contendo 100 mg/mL de ampicilina.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Reconstituir o conteúdo de 10 unidades, conforme indicado no rótulo. Misturar e homogeneizar o conteúdo dos frascos. Transferir quantidade, exatamente medida, da suspensão oral reconstituída para balão volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) a 2,50 mg/mL. Transferir 2 mL dessa solução para erlenmeyer de 250 mL com tampa. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção do micro-organismo; meio de cultura nº 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: reconstituir o conteúdo conforme indicado no rótulo. Transferir volume da suspensão oral para balão volumétrico e diluir com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0),* de modo a obter solução a 0,1 mg/mL de ampicilina. Diluir para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,1 µg/mL e 0,2 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0),* como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de ampicilina SQR, transferir para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água estéril. Diluir para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,1 µg/mL e 0,2 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0),* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura nº 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de ampicilina por mililitro da suspensão reconstituída, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio iodométrico de antibióticos* **(5.3.3.10).** Reconstituir o conteúdo de 10 unidades, conforme indicado no rótulo. Misturar e homogeneizar o conteúdo dos frascos. Transferir quantidade, medida com exatidão, da suspensão oral reconstituída para balão volumétrico, adicionar água, agitar por três a cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução de ampicilina a 2,50 mg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições.

C. 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 de 50 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); 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 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila, fosfato de potássio monobásico *M* e ácido acético *M* (909:80:10:1).

Diluente: misturar 10 mL de fosfato de potássio monobásico *M* e 1 mL de ácido acético *M*. Diluir com água para 1000 mL.

Solução amostra: reconstituir a suspensão como descrito no rótulo do produto. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 0,1 g de ampicilina para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 75 mL de *Diluente* e homogeneizar. Se necessário deixar em banho de ultrassom. Completar o volume com o mesmo solvente.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ampicilina SQR em *Diluente* e diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução de resolução: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cafeína em *Solução padrão* e diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução a 0,12 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre a cafeína e a ampicilina é, no mínimo, 2,0. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 1,4. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ no pó para suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

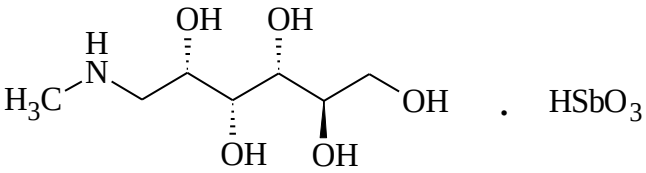
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da umidade e em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ANTIMONIATO DE MEGLUMINA



$C_7H_{17}NO_5.HSbO_3$; 365,98
antimoniato de meglumina; 05587
Trioxoantimonato(1-) de 1-desoxi-1-(metilamino)-D-glicitol
[*133-51-7*]

Antimoniato de meglumina é constituído do sal de antimônio pentavalente de *N*-metilglucamina. Contém, no mínimo, 26% e, no máximo, 28% de antimônio pentavalente (Sb^{5+}), em relação ao antimoniato de meglumina.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, levemente amarelo.

Solubilidade. Solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 6 g da amostra em 20 mL de água. Acidificar 2 mL dessa solução com ácido clorídrico SR e adicionar tioacetamida SR, preparada no momento do uso. Forma-se precipitado alaranjado.

B. Dissolver 6 g da amostra em 20 mL de água. Diluir 1 mL dessa solução com 9 mL de água. Acidificar com 5 mL de ácido sulfúrico a 0,3% (v/v) e adicionar 4 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR. Após alguns segundos desenvolve-se coloração amarela.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,5 a 7,5. Determinar em solução a 30% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Antimônio trivalente. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos* **(5.2.13.1.2)**, sistema em batelada, atomização em cela de quartzo, comprimento de onda de 217,6 nm e resolução do monocromador de (0,20 ± 0,10) nm.

Solução amostra: preparar solução da amostra a 0,3% (p/v) em água e diluir essa solução por um fator a 500 vezes, utilizando o mesmo solvente.

Solução padrão: preparar solução de antimônio trivalente a 0,1% (p/v), por diluição de tartarato de antimônio e potássio ($C_8H_4K_2O_{12}Sb_2.\ 3H_2O$) em água.

Solução redutora: preparar, imediatamente, a solução de tetraidroborato de sódio a 1% (p/v) em hidróxido de sódio a 0,1% (p/v).

Solução de ácido cítrico: preparar solução de ácido cítrico a 4% (p/v) em água.

Procedimento: adaptar o frasco de reação no sistema gerador de hidretos, esperar 30 segundos para purga do sistema e proceder à determinação, conforme recomendações do fabricante, específicas para o equipamento utilizado. O intervalo máximo para a mistura da *Solução amostra* diluída ou da *Solução padrão* com a *Solução de ácido cítrico,* deverá ser de cinco segundos antes da introdução no equipamento. Construir a curva analítica com alíquotas de 0,1 mL de *Solução padrão* de antimônio nas seguintes concentrações: 0,1 mg/L; 0,2 mg/L; 0,3 mg/L; 0,4 mg/L e 0,5 mg/L, preparadas, diariamente, por diluição sequencial em água. Colocar entre 0,20 mL e 0,80 mL da *Solução amostra* diluída ou da *Solução padrão* de antimônio no frasco de reação e adicionar 10 mL de *Solução de ácido cítrico.* No máximo 0,04 mg de antimônio trivalente por mililitro da solução de antimoniato de meglumina a 0,3% (p/v), correspondem a 1,33% de antimônio trivalente da substância analisada.

Metais pesados. As determinações deverão ser feitas por *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1),** com *forno de grafite* **(5.2.13.1.4)** ou *geração de hidretos* **(5.2.13.1.2**), por *Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado* **(5.2.13.2.2)** ou por *Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado* **(5.2.13.3)**. No máximo 9 mg/L, na solução de antimoniato de meglumina a 30% (p/v), correspondente a 0,003% (30 ppm) de metais pesados na substância analisada, para o somatório da concentração dos seguintes elementos: alumínio, arsênio, bismuto, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, mercúrio, níquel e zinco.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método I*. Empregar as seguintes condições: chama ar mais acetileno, comprimento de onda 217,6 nm, resolução do monocromador de (0,20 ± 0,10) nm.

Solução amostra: preparar solução de antimoniato de meglumina a 30% (p/v) em água e diluir, em seguida, por um fator de 2500 vezes, com ácido clorídrico 6 *M*.

Solução padrão: preparar solução de antimônio trivalente a 0,1% (p/v), em água, utilizando tartarato de antimônio e potássio ($C_8H_4K_2O_{12}Sb_2 . 3H_2O$).

Procedimento: construir a curva analítica com a *Solução padrão* de antimônio, nas seguintes concentrações: 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L e 50 mg/L, por diluição sequencial em ácido clorídrico 6 *M*. A partir da concentração de Sb determinada, calcular o teor de Sb no antimoniato de meglumina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiprotozoário.

ANTIMONIATO DE MEGLUMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 92,0% e, no máximo, 108,0% de antimônio pentavalente (Sb^{5+}) em relação à quantidade declarada de Sb^{5+}. Cada 1,5 g de antimoniato de meglumina contém 405 mg de Sb^{5+}.

IDENTIFICAÇÃO

A. Acidificar 2 mL da solução injetável com ácido clorídrico SR e adicionar tioacetamida SR, preparada no momento do uso. Desenvolve-se um precipitado alaranjado.

B. Diluir 1 mL da solução injetável com 9 mL de água. Acidificar essa solução com 5 mL de ácido sulfúrico a 0,3% (v/v) e adicionar 4 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR. Após alguns segundos desenvolve-se coloração amarela.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.1.19). 5,5 a 7,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Antimônio trivalente. Diluir a solução injetável com água por um fator de 50 000 vezes e proceder conforme descrito em *Antimônio trivalente,* na monografia de *Antimoniato de meglumina.*

Metais pesados. Proceder conforme descrito em *Metais pesados* na monografia de *Antimoniato de meglumina*. No máximo 0,0009% (9 mg/L) da solução injetável.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de antimoniato de meglumina.

Toxicidade (5.5.2.3). Cumpre o teste. Injetar, via intravenosa, o equivalente a 1 mg/g de peso do animal.

DOSEAMENTO

Diluir a solução injetável por um fator de 2500 vezes com ácido clorídrico 6 *M* e proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Antimoniato de meglumina*.

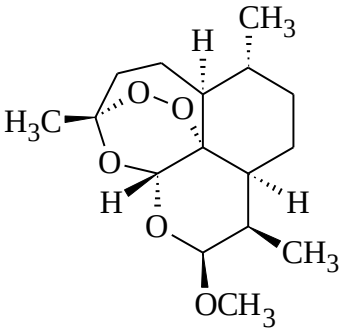
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ARTEMÉTER
Artemetherum



$C_{16}H_{26}O_5$; 298,38
arteméter; 00885
(3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,10*S*,12*R*,12a*R*)-Decaidro-10- metoxi-3,6,9-trimetil-3,12-epoxi-12*H*-pirano[4,3-*j*]-1,2- benzodioxepina
[*71963-77-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{16}H_{26}O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, cristalino e branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico absoluto.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 86 ºC a 90 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +166 a +173. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool etílico absoluto.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de arteméter SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a S*olução (1)* e a *Solução (2)*, como descrito a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em *Fase móvel*.

Solução (2): solução a 0,05 mg/mL da amostra em *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. A área de qualquer pico secundário obtido com a *Solução (1)* não é maior que aquela do pico principal, obtido com a *Solução (2)* (0,5%). No máximo um pico secundário obtido com a *Solução (1)* apresenta área superior à metade da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,25%). A soma das áreas sob todos os picos secundários obtidos com a *Solução (1)*, não é maior que o dobro da área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (1,0%). Não considerar picos com área inferior a 0,1 vezes àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (2)*.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em atmosfera de pentóxido de fósforo, em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 216 nm; coluna cromatográfica de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (62:38).

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 4 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de arteméter SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 4 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{16}H_{26}O_5$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

ARTEMÉTER SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{26}O_5$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume da solução injetável equivalente a 50 mg de arteméter para béquer, adicionar 25 mL de acetona, agitar e filtrar. Evaporar o filtrado à temperatura de 40 ºC e secar o resíduo em dessecador por 24 horas. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Arteméter*.

B. Adicionar 6 mL de álcool etílico absoluto a um volume da solução injetável equivalente a 30 mg de arteméter. Transferir cinco gotas para cápsula de porcelana e adicionar uma gota de vanilina SR. Desenvolve-se coloração rosa.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas*, na monografia de *Arteméter*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): diluir volume da solução injetável em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 10 mg/mL.

Solução (2): diluir a *Solução (1)* em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,05 mg/mL.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Arteméter*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Diluente: mistura de isopropanol e acetonitrila (75:25).

Solução amostra: diluir volume da solução injetável no *Diluente*, de modo a obter solução a 4 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{26}O_5$ na solução injetável, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

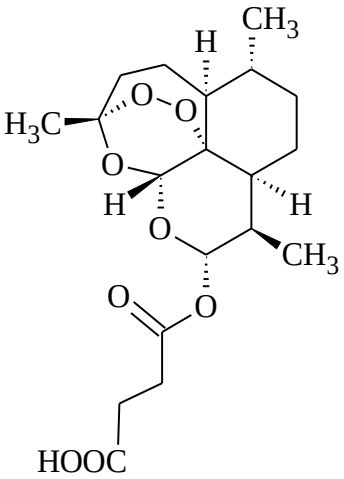
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz, em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ARTESUNATO

Artesunatum



$C_{19}H_{28}O_8$; 384,43
artesunato; 09673
Éster 1-[(3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,10*S*,12*R*,12a*R*)-decaidro-3,6,9-trimetil-3,12-epoxi-12*H*-pirano[4,3-*j*]-1,2- benzodioxepina-10-ílico] do ácido butanodioico
[*88495-63-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{19}H_{28}O_8$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, cristalino, branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 132 ºC a 135 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +4,5 a +6,5. Determinar em solução a 1% (p/v) em cloreto de metileno.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de artesunato SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução Padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,5 a 4,5. Determinar em suspensão a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): solução a 4 mg/mL da amostra em acetonitrila.

Solução (2): solução a 0,04 mg/mL da amostra em acetonitrila.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área de qualquer pico secundário obtido com a *Solução (1)* não é maior que aquela do pico principal obtido com a *Solução (2)* (1,0%). No máximo um pico obtido com a *Solução (1)* apresenta área superior à metade da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). A soma das áreas sob todos os picos secundários obtidos com a *Solução (1),* , não é maior que o dobro da área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (2,0%). Não considerar os picos com área inferior a 0,1 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 2 g da amostra. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 216 nm; coluna de 125 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Tampão pH 3,0: dissolver 1,36 g de fosfato de potássio monobásico em 900 mL de água. Ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico, completar o volume para 1000 mL com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 3,0* e acetonitrila (50:50).

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em acetonitrila, pesada com exatidão, de modo a obter solução a 2 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de artesunato SQR, pesada com exatidão, em acetonitrila, de modo a obter solução a 2 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{19}H_{28}O_8$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

ARTESUNATO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{19}H_{28}O_8$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de artesunato para béquer, adicionar 25 mL de acetona, agitar e filtrar. Evaporar o filtrado em banho-maria e deixar o resíduo em dessecador, sob sílica-gel, por 24 horas. O resíduo obtido responde ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Artesunato*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas*, da monografia de *Artesunato*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,4 g de artesunato para béquer e adicionar 20 mL de álcool etílico. Agitar vigorosamente e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* da monografia de *Artesunato*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir, quantitativamente, quantidade do pó equivalente a 0,25 g de artesunato para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 20 mL de álcool

etílico e agitar mecanicamente por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{28}O_8$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

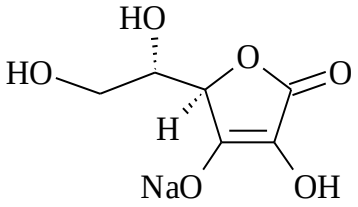
Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ASCORBATO DE SÓDIO

Natrii ascorbas



$C_6H_7NaO_6$; 198,11
ascorbato de sódio; 00107
Sal de sódio do ácido L-ascórbico (1:1)
[*134-03-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_7NaO_6$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou amarelado, cristalino.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico e praticamente insolúvel em cloreto de metileno.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +103 a +108 Determinar em solução a 100 mg/mL em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ascorbato de sódio SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar 1 g da amostra e dissolver em 50 mL de água. A 4 mL dessa solução, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. A solução resultante reduz o tartarato cúprico alcalino SR, lentamente, à temperatura ambiente, e mais rapidamente sob aquecimento.

C. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

D. Preparar uma solução a 10% (p/v) da amostra . A 1 mL dessa solução, adicionar 0,2 mL de ácido nítrico SR e 0,2 mL de nitrato de prata 1,7% (p/v). Ocorre formação de precipitado cinza.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em água e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Essa preparação não é mais intensamente colorida que a solução padrão, preparada pela diluição de 5 mL da *Solução de referência de cor* descrita a seguir, em 95 mL de ácido clorídrico 1% (p/v). Proceder conforme descrito em *Cor de líquidos* **(5.2.12)**.

Solução de referência de cor: misturar 1,5 partes da solução base de cloreto férrico, 1,2 partes da solução base de sulfato cúprico, 1,5 partes da solução base de cloreto de cobalto II e 0,8 partes de ácido clorídrico 1% (p/v).

pH (5.2.19). 7,0 a 8,0. Determinar na solução a 10% (p/v) .

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas, 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 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fase estacionária ligada de fenil e metilpolisiloxano (5:95), com espessura do filme de 5 μm; temperatura da coluna de 35 ºC a 260 ºC (35 ºC mantida durante cinco minutos, aumentar a 175 ºC a 8 ºC por minuto, aumentada a 260 ºC a 35 ºC e mantida a esta temperatura por, pelo menos, 16 minutos), temperatura do injetor a 70 ºC e temperatura do detector a 260 ºC; utilizar hélio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Solução amostra: pesar, com exatisão, cerca de 1 g da amostra e dissolver em 50 mL de água, isenta de compostos orgânicos.

Solução padrão: preparar uma solução, em água isenta de compostos orgânicos, contendo, em cada mL, 10 μg de cloreto de metileno, 1 μg de clorofórmio, 2 μg benzeno, 2 μg de dioxano e 2 μg de tricloroetileno.

Injetar, separadamente, 1 μL da *Solução amostra* e da *Solução padrão,* registraros cromatogramas e medir a área sob os picos. Identificar, baseado no tempo de retenção, qualquer pico presente no cromatograma da solução amostra. A presença e a identificação dos picos no cromatograma devem ser estabelecidas comparando os cromatogramas da *Solução amostra* e *Solução padrão*. A amostra deve conter, no máximo, 2 ppm de benzeno, 50 ppm de clorofórmio, 100 ppm de dioxano, 500 ppm de cloreto de metileno e 100 ppm de tricloroetileno.

Ácido oxálico. Deixar as seguintes preparações em repouso por uma hora. A opalescência da *Preparação amostra* não é maior que a da *Preparação padrão*.

Preparação amostra: dissolver 0,25 g de amostra em 5 mL de água. Adicionar 1 mL de ácido acético diluído e 0,5 mL de cloreto de cálcio SR. No máximo 0,3% (3000 ppm).

Preparação padrão: dissolver 70 mg de ácido oxálico em água e completar para o volume de 500 mL com o mesmo solvente. A 5 mL dessa solução, adicionar 1 mL de ácido acético diluído e 0,5 mL de cloreto de cálcio SR.

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 1,6 g da amostra em 40 mL de água e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos,* utilizando 0,5 mL de solução padrão de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Cobre. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica com chama* **(5.2.13.1.1)**. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de catodo oco de cobre e selecionar a linha de emissão em 324,8 nm.

Solução amostra: transferir 2 g da amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido nítrico SR. No máximo 5 ppm de cobre.

Ferro. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica com chama* **(5.2.13.1.1)**. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de catodo oco de ferro e selecionar a linha de emissão em 248,3 nm.

Solução amostra: transferir 5 g da amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido nítrico SR. No máximo 2 ppm de ferro.

Níquel. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica com chama* **(5.2.13.1.1)**. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de catodo oco de níquel e selecionar a linha de emissão em 232,0 nm.

Solução amostra: transferir 10 g da amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido nítrico SR. No máximo 1 ppm de níquel.

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g de amostra em água e proceder conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra, em estufa a 105 ºC até peso constante. No máximo 0,25%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra e dissolver em uma mistura de 100 mL de água e 25 mL de ácido sulfúrico 9,8% (p/v). Titular imediatamente com iodo 0,1 *M* SV e adicionar 3 mL de amido I, próximo ao ponto final. Cada mL de iodo 0,1 *M* SV equivale a 19,81 mg de $C_6H_7NaO_6$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos, protegidos da luz.

ROTULAGEM

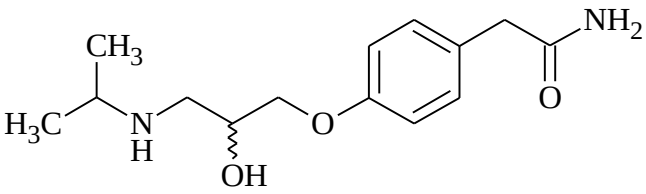
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Excipiente.

ATENOLOL

Atenololum



$C_{14}H_{22}N_2O_3$; 266,34
atenolol; 00911
4-[2-Hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]benzenoacetamida
[*29122-68-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_{22}N_2O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico, solúvel em ácido acético glacial e álcool etílico, praticamente insolúvel em acetonitrila.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 152 ºC a 155 ºC.

Rotação óptica **(5.2.8)**: +0,10° a -0,10°. Determinar em solução a 1% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de atenolol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,01% (p/v) em álcool metílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de atenolol SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 275 nm e 282 nm está compreendida entre 1,15 e 1,20.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio e álcool metílico (3:97), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 10 µg/mL em álcool metílico.

Solução (2): solução de atenolol SQR a 10 µg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

ENSAIOS DE PUREZA

Cloretos. Dissolver 1 g da amostra em 100 mL de ácido nítrico 0,15 *M*, adicionar 1 mL de nitrato de prata SR e homogeneizar. Qualquer turbidez desenvolvida não é mais intensa que a da mistura de 2,8 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*, 98,6 mL de ácido nítrico 0,15 *M* e 1 mL de nitrato de prata SR. No máximo 0,1% (1000 ppm).

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento.* Preparar a *Solução (1)* e a *Solução (2)* como descrito a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Solução (2): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e diluir com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,5 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, seis vezes o tempo de retenção do pico do atenolol e medir as áreas sob os picos. Nenhum pico secundário obtido com a *Solução (1)* deve apresentar área superior à metade da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,25%). A soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* não deve ser superior à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e dissolver em álcool metílico. Completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,01% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 275 nm, utilizando álcool metílico para o ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 226 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 0,6 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 1,1 g de heptanossulfonato de sódio e 0,71 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 700 mL de água. Se necessário, ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico SR. Adicionar 300 mL de álcool metílico e 2 mL de dibutilamina e homogeneizar.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel* de modo a obter solução a 10 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de atenolol SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel* de modo a obter solução a 10 μg/mL.

Injetar replicatas de 10 μL da *Solução padrão.* A eficiência da coluna é, no mínimo, 5000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA.

Anti-hipertensivo.

ATENOLOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}N_2O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, exibe máximos de absorção em 275 nm e 282 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 25 mL contendo 15 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom até a desintegração do comprimido. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*, a partir de "Aquecer a suspensão resultante".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, diluir com ácido fosfórico a 0,1% (v/v) até concentração de 10 µg/mL e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Atenolol*. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ dissolvida no meio, comparando as áreas sob os picos obtidos com a solução de atenolol SQR na concentração de 10 mg/mL, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos, transferir quantidade do pó equivalente a 0,25 g de atenolol para balão volumétrico de 250 mL e adicionar 150 mL de álcool metílico. Aquecer a suspensão resultante a 60 ºC por 10 minutos, agitando ocasionalmente. Agitar mecanicamente por 15 minutos, resfriar e completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,01% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 275 nm, utilizando álcool metílico para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento,* da monografia de *Atenolol*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 10 comprimidos para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 500 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos, ou até desintegração total dos comprimidos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e centrifugar. Diluir sucessivamente, no mesmo solvente, até concentração de 10 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ATENOLOL E CLORTALIDONA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de atenolol ($C_{14}H_{22}N_2O_3$) e de clortalidona ($C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio *M* e álcool butílico (1:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de clortalidona para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 8 mL de álcool metílico. Agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): preparar solução a 1 mg/mL de clortalidona SQR em álcool metílico.

Solução (3): preparar solução a 4 mg/mL de atenolol SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). As manchas referentes ao atenolol e à clortalidona, obtidas com a *Solução (1)*, correspondem em posição, cor e intensidade àquelas obtidas com a *Solução (2)* e com a *Solução (3)*.

B. Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico, obtendo solução de clortalidona com concentração de 0,025% (p/v). Adicionar mistura de água e acetonitrila (1:1) equivalente a 50% do volume do balão. Agitar mecanicamente por 20 minutos até desintegração total do comprimido e completar o volume com o mesmo solvente. Prosseguir conforme descrito no método de *Doseamento*, a partir do preparo da *Solução padrão*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra*, a *Solução padrão* e o *Diluente* como descrito a seguir.

Diluente: mistura de acetonitrila e ácido sulfúrico 1,8 *M* (1000:32).

Solução amostra: mistura de 10 mL do meio de dissolução após o teste e 3 mL do *Diluente*.

Solução padrão: preparar solução de atenolol SQR em mistura de água e *Diluente* (750:225), obtendo solução a 0,00085 L mg de atenolol e 0,00085 L' mg de clortalidona, por mililitro, onde L e L' são as quantidades declaradas, em miligramas, nos comprimidos, de atenolol e clortalidona, respectivamente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de atenolol ($C_{14}H_{22}N_2O_3$) e 70% (Q) da quantidade declarada de clortalidona ($C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$) se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 275 nm; coluna de 250 nm 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 1,7 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido sulfúrico 1,8 *M* (740:250:8) e 930 mg de octilsulfato de sódio por litro de mistura.

Solução amostra: pesar e pulverizar 10 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de clortalidona para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 40 mL da mistura de água e acetonitrila (1:1) e agitar mecanicamente por 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 25 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 0,25 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de atenolol SQR e clortalidona SQR, pesadas com exatidão, em mistura de água e acetonitrila (3:1) para obter solução a 1 mg/mL e 0,25 mg/mL, respectivamente.

Injetar replicatas de 10 μL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,8 para atenolol e 1,0 para clortalidona. A resolução entre clortalidona e atenolol é, no mínimo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de atenolol ($C_{14}H_{22}N_2O_3$) e clortalidona ($C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$) nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

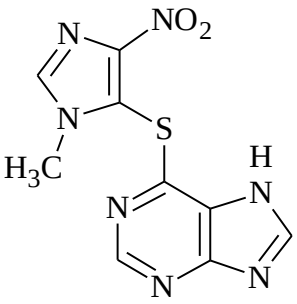
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AZATIOPRINA

Azathioprinum



$C_9H_7N_7O_2S$; 277,26
azatioprina; 00984
6-[(1-Metil-4-nitro-1*H*-imidazol-5-il)tio]-9*H*-purina
[*446-86-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,5% de $C_9H_7N_7O_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amarelo pálido.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos e pouco solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de azatioprina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,00075% (p/v), preparada em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em 280 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de azatioprina SQR.

C. Aquecer 20 mg da amostra com 100 mL de água e filtrar. A 5 mL do filtrado, adicionar 1 mL de ácido clorídrico e 10 mg de zinco em pó e deixar em repouso por 5 minutos. Desenvolve-se coloração amarela. Filtrar. Adicionar 0,1 mL de nitrito de sódio SR e 0,1 g de ácido sulfâmico. Agitar até desaparecimento das bolhas. Adicionar 1 mL de 2-naftol SR. Produz-se precipitado rosa.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e agitar por 15 minutos. Filtrar. No máximo 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* é gasto para neutralizar 20 mL do filtrado, utilizando vermelho de metila SI como indicador. No máximo 0,2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* é gasto para neutralizar 20 mL do filtrado, utilizando vermelho de metila SI como indicador.

Limite de mercaptopurina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico e água (4:1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 20 mg/mL em amônia SR.

Solução (2): solução de mercaptopurina a 0,2 mg/mL em amônia SR.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Em seguida, submeter a vapores de iodo. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa, sob pressão reduzida a 105 ºC, por cinco horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra e dissolver em 25 mL de dimetilformamida. Titular com hidróxido de tetrabutilamônio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de tetrabutilamônio 0,1 *M* SV equivale a 27,726 mg de $C_9H_7N_7O_2S$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g de azatioprina para balão volumétrico de 500 mL e acrescentar 300 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho-maria por 30 minutos. Resfriar e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Realizar diluição até concentração de 0,001% (p/v), utilizando o mesmo solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir a absorvância das soluções em 280 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para o ajuste do zero. Calcular o teor de $C_9H_7N_7O_2S$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Imunossupressor.

AZATIOPRINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_9H_7N_7O_2S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando celulose microcristalina, como suporte, e mistura de álcool butílico saturado com hidróxido de sódio 6 *M*, como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,2 g de azatioprina para frasco pequeno e adicionar 10 mL de hidróxido de sódio 6 M. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): preparar solução a 20 mg/mL de azatioprina SQR em hidróxido de sódio 6 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 20 mg de azatioprina e prosseguir conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Azatioprina*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6.). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 280 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_9H_7N_7O_2S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com solução de azatioprina SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_9H_7N_7O_2S$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,15 g de azatioprina, para balão volumétrico de 500 mL. Dissolver em 20 mL de dimetilsulfóxido e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Filtrar. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração de 0,00075% (p/v). Preparar a solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 280 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_9H_7N_7O_2S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 628, em 280 nm, em ácido clorídrico 0,1 *M*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm); mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 1 g de 1-heptanossulfonato de sódio em 700 mL de água, adicionar 300 mL de álcool metílico, e homogeneizar. Ajustar o pH da solução para 3,5 com ácido clorídrico *M*.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de azatioprina para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 25 mL de álcool metílico e 1 mL de hidróxido de amônio no balão, e levar a banho de ultrassom durante dois minutos. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de azatioprina SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 15 mL de álcool metílico e 0,5 mL de hidróxido de amônio e deixar em banho de ultrassom durante dois minutos. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completar com água e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 800 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_9H_7N_7O_2S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

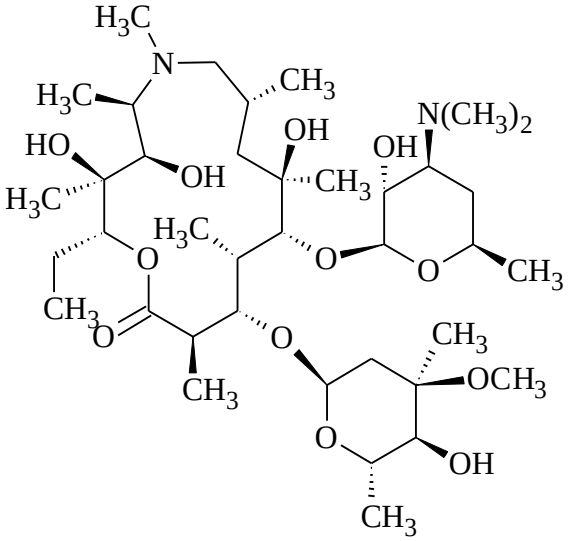
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AZITROMICINA

Azithromycinum



$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$; 749,00
azitromicina; 00997
(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-13-[(2,6- Didesoxi-3-*C*-metil-3-*O*-metil-α-L-*ribo*-hexopiranosil) oxi]-2-etil-3,4,10-tri-hidroxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil-11-[[3,4,6-tridesoxi-3-(dimetilamino)-β-D-*xilo*hexopiranosil]oxi]-1-oxa-6-azaciclopentadecan-15-ona
[*83905-01-5*]

$C_{38}H_{72}N_2O_{12}.H_2O$; 767,01
azitromicina monoidratada; 10657
(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-13-[(2,6- Didesoxi-3-*C*-metil-3-*O*-metil-α-L-*ribo*-hexopiranosil) oxi]-2-etil-3,4,10-tri-hidroxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil- 11-[[3,4,6-tridesoxi-3-(dimetilamino)-β-D-*xilo*hexopiranosil] oxi]-1-oxa-6-azaciclopentadecan-15-ona hidratada
[*121470-24-4*]

$C_{38}H_{72}N_2O_{12}.2H_2O$; 785,03
azitromicina di-hidratada; 00998
(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-13-[(2,6- Didesoxi-3-*C*-metil-3-*O*-metil-α-L-*ribo*-hexopiranosil) oxi]-2-etil-3,4,10-tri-hidroxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil-11-[[3,4,6-tridesoxi-3-(dimetilamino)-β-D-*xilo*hexopiranosil]oxi]-1-oxa-6-azaciclopentadecan-15-ona di-hidratada
[*117772-70-0*]

A potência é de, no mínimo, 945 μg e, no máximo, 1030 μg de azitromicina ($C_{38}H_{72}N_2O_{12}$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico e álcool metílico. Muito pouco solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos. Ligeiramente solúvel em soluções ácidas.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -45 a -49, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 2% (p/v) em álcool etílico, a 20 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de azitromicina SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 9,0 a 11,0. Determinar em solução a 0,2% (p/v), em mistura de água e álcool metílico (1:1).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo 0,0025% (25 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo 5,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. Umedecer a amostra com 2 mL de ácido nítrico e cinco gotas de ácido sulfúrico. No máximo 0,3%.

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra, por meio de ajuste do micrométrico.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção do micro-organismo, meio de cultura nº 3, para padronização do inóculo e meio de cultura nº 11, para camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 25 mL com auxílio de 10 mL de álcool metílico. Agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com álcool metílico. Filtrar. Diluir, sucessivamente, a solução resultante, em *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções a 0,1 µg/mL, 0,2 µg/mL e 0,4 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de azitromicina SQR, transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com álcool metílico. Diluir, sucessivamente, a solução resultante, em *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0),* de modo a obter soluções a 0,1 µg/mL, 0,2 µg/mL e 0,4 µg/mL.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura nº 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de azitromicina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e com as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

AZITROMICINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de azitromicina ($C_{38}H_{72}N_2O_{12}$).

IDENTIFICAÇÃO

Pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,25 g de azitromicina para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Evaporar o filtrado em banho-maria e pesar 1,5 mg do resíduo. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Azitromicina*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 5,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Azitromicina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de azitromicina para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com álcool metílico. Agitar por 15 minutos e filtrar. Diluir, sucessivamente, a solução resultante, em *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)*, de modo a obter soluções nas concentrações entre 0,1 µg/mL e 0,4 µg/mL.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

AZITROMICINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0%, da quantidade declarada de azitromicina ($C_{38}H_{72}N_2O_{12}$). Azitromicina pó para suspensão oral é mistura de azitromicina com um ou mais agentes aromatizantes, tamponantes, adoçantes e suspensores.

IDENTIFICAÇÃO

Transferir quantidade do pó equivalente a 0,2 g de azitromicina para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar e filtrar. Evaporar o filtrado em banho-maria, até obter o resíduo. Prosseguir conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Azitromicina*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar no frasco do diluente.

pH (5.2.19). 8,5 a 11,0. Reconstituir a suspensão como descrito no rótulo do produto.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó não reconstituído.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Aplicado quando o pó é envasado em dose única. Cumpre o teste. Reconstituir a suspensão como descrito no rótulo do produto.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 1,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Azitromicina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: reconstituir a suspensão como descrito no rótulo do produto. Transferir volume da suspensão oral, recentemente homogeneizada e isenta de bolhas, contendo o equivalente a 0,2 g de azitromicina, para balão volumétrico de 20 mL com auxílio de 10 mL de álcool metílico. Agitar e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0))*. Diluir até as concentrações de 0,1 µg/mL, 0,2 µg/mL e 0,4 µg/mL, utilizando o *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

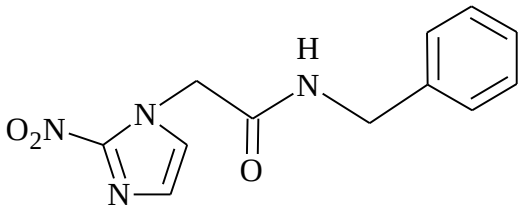
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BENZNIDAZOL
Benznidazolum



$C_{12}H_{12}N_4O_3$; 260,25
benznidazol; 01153
2-Nitro-*N*-(fenilmetil)-1*H*-imidazol-1-acetamida
[*22994-85-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{12}N_4O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, levemente amarelado e estável ao ar.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, muito solúvel em dimetilsulfóxido, pouco solúvel em álcool metílico, muito pouco solúvel em álcool etílico, álcool isopropílico e glicerol. Muito pouco solúvel em hidróxido de sódio 0,1 *M* e ácido clorídrico 0,1 *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 188 ºC a 190 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de benznidazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 316 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão. A absorvância em 316 nm é de, aproximadamente, 0,352.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias* relacionadas, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e a mistura de clorofórmio, acetato de etila, álcool metílico e ácido acético glacial (40:40:15:5) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a da amostra a 25 mg/mL em acetona.

Solução (2): solução de benznidazol SQR a 25 mg/mL em acetona.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* em acetona para obter solução a 125 µg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Aquecer a 110 ºC durante 10 minutos. Deixar esfriar e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

Cloretos. Dissolver 30 mg da amostra em 3 mL de álcool metílico utilizando tubo de ensaio e adicionar 5 mL de ácido nítrico a 12% (v/v) e 5 mL de nitrato de prata SR. Não ocorre turvação.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,12 g da amostra para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de álcool metílico. Agitar, mecanicamente, até completa solubilização. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração e utilizando os mesmos solventes. Determinar as absorvâncias das soluções em 316 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{12}H_{12}N_4O_3$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

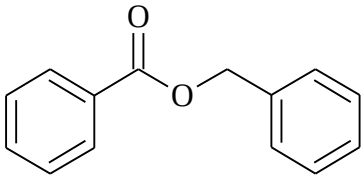
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antichagásico.

BENZOATO DE BENZILA

Benzylis benzoas



$C_{14}H_{12}O_2$; 212,25
benzoato de benzila; 01155
Éster fenilmetílico do ácido benzoico
[*120-51-4*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{14}H_{12}O_2$.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Líquido oleoso, límpido e incolor de odor fracamente aromático. Pelo resfriamento, forma cristais incolores. Seu ponto de congelamento é cerca de 17 ºC.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Miscível em álcool etílico, éter etílico, clorofórmio e óleos fixos. Praticamente insolúvel em glicerol.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 1,116 a 1,120.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,568 a 1,570.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se for realizado o teste **A**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de benzoato de benzila SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de hidróxido de potássio 0,5 *M* em álcool etílico, ferver durante 20 minutos e evaporar o álcool etílico em banho-maria. Resfriar e adicionar 20 mL de água. Extrair com duas porções de 15 mL de éter etílico e reservar a camada aquosa. Evaporar a camada etérea em banho-maria. O resíduo oleoso, incolor, constituído por álcool benzílico, apresenta ponto de ebulição entre 203 ºC e 208 ºC. Aquecer uma gota do resíduo com 5 mL de carbonato de sódio SR e 1 mL de permanganato de potássio SR. Produz-se odor de aldeído benzoico.

C. Adicionar 10 mL de ácido sulfúrico a 10% (p/v) à camada aquosa obtida no teste **B.** de *Identificação*. Forma-se precipitado branco, cristalino, de ácido benzoico. Lavar com água e dessecar em estufa, sob pressão reduzidaa 70 ºC, durante três a quatro horas. O ponto de fusão do precipitado é de, aproximadamente, 121 ºC.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de álcool etílico previamente neutralizado. Adicionar 0,2 mL de fenolftaleína SI e 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. Desenvolve-se coloração rósea.

Aldeído. Transferir 10 g da amostra para um erlenmeyer contendo 50 mL de álcool etílico e 5 mL de cloridrato de hidroxilamina a 3,5% (p/v). Homogeneizar e deixar em repouso durante 10 minutos. Adicionar 1 mL de azul de bromofenol SI e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até coloração levemente verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. O volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV consumido na titulação da amostra deve ser, no máximo, 0,5 mL (0,05% de benzaldeído).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,05%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra, transferir para erlenmeyer e adicionar 50 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV. Adaptar ao frasco um condensador de refluxo e ferver durante uma hora. Resfriar e titular o excesso de hidróxido de potássio com ácido clorídrico 0,5 *M* SV, acrescentando duas gotas de fenolftaleína SI. Realizar o ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de potássio 0,5 *M* SV equivale a 106,120 mg de $C_{14}H_{12}O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e do calor excessivo.

ROTULAGEM

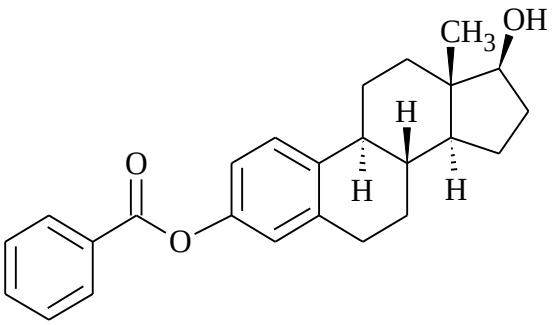
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Escabicida.

BENZOATO DE ESTRADIOL

Estradioli benzoas



$C_{25}H_{28}O_3$; 376,50
benzoato de estradiol; 03597
3-Benzoato de (17*β*)-estra-1,3,5(10)-trieno-3,17-diol
[*50-50-0*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{25}H_{28}O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou branco amarelado e estável ao ar.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico e em óleos vegetais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 191 ºC a 196 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +57 a +63, em relação à substância dessecada. Determinar em solução da amostra a 1,0% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de benzoato de estradiol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 2 mg da amostra em 2 mL de ácido sulfúrico. A solução apresenta-se amarelo-esverdeada e com fluorescência azul. Adicionar 2 mL de água destilada, a coloração passa para alaranjada.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm) , mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* 1,0 mL/minuto.

Eluente A: mistura de água e acetonitrila (40:60).

Eluente B: acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 20	100	0	isocrática
20 - 21	100 → 10	0 → 90	gradiente linear
21 - 31	10	90	isocrática

Solução (1): pesar, com exatidão, 20 mg da amostra, dissolver em acetonitrila e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 5 mg de benzoato de estradiol para adequabilidade do sistema SQR (contendo as impurezas A (estradiol), B (benzoato de 17β-hidroxi-4-metil-estra-1,3,5(10)-trieno-3-il), C (dibenzoato de estra-1,3,5(10)-trieno-3,17 β -di-il), E (benzoato de 17α-hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-3-il) e G (benzoato de estrona)) em acetonitrila e diluir para 2,5 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): diluir 0,5 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetonitrila.

Utilizar o cromatograma fornecido com o benzoato de estradiol para adequabilidade do sistema SQR e o cromatograma obtido com a *Solução (2)* para identificar os picos referentes às impurezas A, B, C, E e G. Os tempos de retenção relativos em relação ao benzoato de estradiol (tempo de retenção cerca de 19 minutos) são de cerca de 0,3 para a impureza A; cerca de 1,1 para a impureza E; cerca de 1,2 para a impureza B; cerca de 1,3 para a impureza G e de cerca de 1,5 para a impureza C.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Multiplicar as áreas sob os picos referentes às impurezas A e C pelos seguintes fatores de correção: impureza A – 3,3; impureza C – 0,7. Calcular a porcentagem de cada impureza encontrada. A área obtida para a impureza C não é maior que a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (3)* (0,5 %). As áreas sob cada um dos picos referentes às impurezas B, E e G, não são maiores que 0,6 vezes a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (3)* (0,3 %). A área obtida para a impureza A não é maior que 0,4 vezes a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (3)* (0,2 %). Para outras impurezas, as áreas obtidas sob cada um dos picos não são maiores que 0,2 vezes a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (3)* 0,10 %. A soma das áreas de todas as impurezas encontradas no cromatograma da *Solução (1)* não é maior que o dobro da área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (3)* (1,0 %). Não considerar picos com área inferior a 0,1 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,05%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, durante três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e dissolver em álcool etílico. Diluir para 250 mL com o mesmo solvente. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, diluir e completar o volume com álcool etílico. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 231 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{25}H_{28}O_3$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

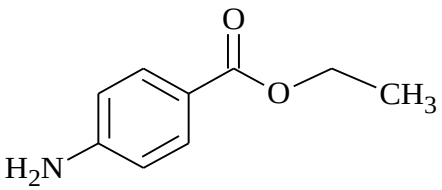
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Estrogênio.

BENZOCAÍNA

Benzocainum



$C_9H_{11}NO_2$; 165,19
benzocaína; 01159
Éster etílico do ácido 4-aminobenzoico
[*94-09-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_9H_{11}NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 88 ºC a 92 ºC. A faixa entre o início e o fim da fusão é, no máximo, 2 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada em atmosfera de pentóxido de fósforo anidro por três horas, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de benzocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em clorofórmio, há máximo de absorção em 278 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de benzocaína SQR. As absortividades respectivas, calculadas em relação à base dessecada e no comprimento de onda de absorvância máxima, em torno de 278 nm, diferem no máximo 3%.

C. Dissolver 20 mg da amostra com 10 mL de água em presença de algumas gotas de ácido clorídrico 3 *M*. Acrescentar cinco gotas de solução de nitrito de sódio SR e 2 mL de uma solução preparada dissolvendo 100 mg de 2-naftol em 5 mL de hidróxido de sódio *M*. Desenvolve-se precipitado vermelho-alaranjado.

D. A solução da amostra a 4% (p/v) em álcool etílico não satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação etílica a 5% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 0,5 g da amostra em 10 mL de álcool etílico previamente neutralizado com 0,05 mL de fenolftaleína SI. Adicionar 10 mL de água isenta de dióxido de carbono. A solução mantém-se incolor. No máximo 0,5 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* SV é gasto para promover a viragem do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio contendo 0,75% de álcool etílico anidro, como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 100,0 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e diluir com álcool etílico anidro.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de benzocaína SQR em álcool etílico anidro de modo a obter uma solução a 0,10 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma e deixar a fase móvel percorrer três quartos do comprimento da placa. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, tem intensidade máxima igual àquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar sob pentóxido de fósforo por três horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 285 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo fenila (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Solução aquosa: mistura de 980 mL de água, 20 mL de ácido acético e 1 mL de trietilamina. Ajustar o pH para valores entre 2,95 e 3,00, se necessário. Homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Solução aquosa* e álcool metílico (40:60).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 24 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de benzocaína SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,024 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda para o pico da benzocaína é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_9H_{11}NO_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

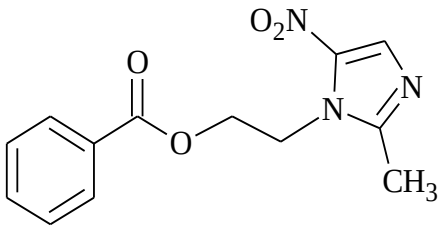
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico.

BENZOILMETRONIDAZOL

Metronidazoli benzoas



$C_{13}H_{13}N_3O_4$; 275,26
benzoilmetronidazol; 01166
1-Benzoato de 2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-etanol
[*13182-89-3*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{13}H_{13}N_3O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou flocos, branco a branco-amarelado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 99 ºC a 102 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de benzoilmetronidazol SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver 2 g da amostra em 40 mL de mistura de dimetilformamida e água (1:1), previamente neutralizada com ácido clorídrico 0,02 *M* ou hidróxido de sódio 0,02 *M*, utilizando 0,2 mL de vermelho de metila SI como indicador. No máximo 0,25 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* SV é necessário para mudar a cor do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4.)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo di-isobutil octadecilsilano (5 μm) com área superficial específica de 180 m^2/g, tamanho de poro de 8 nm e carga de carbono de 10%; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Eluente A: preparar solução de fosfato de potássio monobásico a 0,15% (p/v) em água e ajustar o pH para 3,2 com ácido fosfórico.

Eluente B: acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 5	80	20	isocrática
5 – 15	80 → 55	20 → 45	gradiente linear
15 – 40	55	45	isocrática

Diluente: mistura de *Eluente A* e *Eluente B* (55:45).

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g de amostra, transferir para balão volumétrico de 10 mL, dissolver e completar o volume com *Diluente*.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Diluente*. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Diluente*.

Solução (3): transferir, quantitativamente, cerca de 5,0 mg de impureza A (metronidazol), 5,0 mg de impureza B (2-metil-5-nitroimidazol) e 5,0 mg de impureza C (ácido benzoico) para balão volumétrico de 50 mL, dissolver e completar o volume com *Diluente*. Transferir 1 mL da solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Diluente*.

Injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (3)* e registrar o cromatograma. Os tempos de retenção relativos em relação ao benzoilmetronidazol (tempo de retenção cerca de 20 minutos) são cerca de 0,17 para a impureza B, 0,20 para a impureza A e 0,70 para a impureza C. A resolução entre a impureza A e a impureza B é de, no mínimo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)*, da *Solução (2)* e da *Solução (3)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. As áreas sob os picos referentes às impurezas A, B e C, obtidos com a *Solução (1)*, não são maiores que as áreas sob os respectivos picos obtidos com a *Solução (3)* (0,1% para cada impureza). Qualquer outra impureza registrada no cromatograma da *Solução (1)* não possui área maior que a área obtida sob o pico principal (benzoilmetronidazol) da *Solução (2)* (0,1%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico do solvente e sob o pico principal, não é maior que duas vezes a área sob o pico principal (benzoilmetronidazol), obtido com a *Solução (2)* (0,2%). Não considerar picos com área inferior a 0,1 vezes àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,01%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 80 ºC, por 3 horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,25 g da amostra em 50 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente ou utilizando cloreto de metilrosanilínio SI até mudança de cor para verde-azulada. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 27,526 mg de $C_{13}H_{13}N_3O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano; antiprotozoário.

BENZOILMETRONIDAZOL SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{13}N_3O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 308 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,5 a 6,5. Determinar na suspensão oral reconstituída conforme indicado no rótulo.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 0,4 g de benzoilmetronidazol para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de dimetilformamida e 60 mL de álcool etílico. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com álcool etílico, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, em álcool etílico, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 308 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{13}N_3O_4$ na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (50:50).

Solução amostra: transferir volume da suspensão oral equivalente a 0,2 g de benzoilmetronidazol para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 35 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Esfriar à temperatura ambiente, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com a *Fase móvel*, obtendo solução a 0,2 mg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de benzoilmetronidazol SQR,transferir para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 20 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Resfriar à temperatura ambiente, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 0,2 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{13}N_3O_4$ na suspensão oral, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BICARBONATO DE POTÁSSIO

Kalii hydrogenocarbonas

$KHCO_3$; 100,11
bicarbonato de potássio; 01248
Sal de potássio do ácido carbônico (1:1)
[*298-14-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $KHCO_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, cristalino ou cristais incolores. Quando aquecida, a substância seca ou em solução converte-se gradualmente em carbonato de potássio.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 5 mL da solução obtida em *Aspecto da preparação,* adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. A solução adquire coloração rosa-pálida. Aquecer. O gás evapora e a coloração torna-se vermelha.

B. Satisfaz às reações do íon carbonato **(5.3.1.1)**.

C. Satisfaz às reações do íon bicarbonato **(5.3.1.1)**.

D. A solução obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). No máximo 8,6. Determinar na preparação obtida em *Aspecto da preparação*.

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica com chama* **(5.2.13.1.1)**, utilizar o *Método I*. Utilizar espectrômetro provido de chama de ar-acetileno, com fonte emissora de luz a 589,6 nm. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): dissolver 1 g da amostra em água e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): preparar solução de cloreto de sódio a 0,1% (p/v) em água. Preparar as soluções da curva analítica por diluição sequencial em água.

Adicionar à *Solução (1)* e à *Solução (2)* quantidade equivalente a 0,5% (v/v) de uma solução de cloreto de césio a 1% (p/v). No máximo 0,5% de sódio (5000 ppm).

Amônia (5.3.2.6). Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 2,4 g da amostra. No máximo 0,015% (150 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Determinar em 2,5 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*, não havendo a necessidade de ajustar o pH. No máximo 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 8 g da amostra. No máximo 0,015% (150 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em sílica-gel, por quatro horas. No máximo 0,3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,8 g da amostra em 50 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar 0,1 mL de alaranjado de metila SI. Titular com ácido clorídrico *M* SV até a coloração amarela começar a mudar para rosa-amarelada. Aquecer cuidadosamente e ferver por dois minutos. A solução torna-se amarela. Resfriar e titular até obter coloração rosa-amarelada. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV equivale a 100,100 mg de $KHCO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico.

BICARBONATO DE SÓDIO

Natrii hydrogenocarbonas

$NaHCO_3$; 84,01
bicarbonato de sódio; 01249
Sal de sódio do ácido carbônico (1:1)
[*144-55-8*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $NaHCO_3$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, cristalino. Quando aquecido, seco ou em solução, converte-se, gradativamente, em carbonato de sódio.

Solubilidade. Solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Preparar solução de bicarbonato de sódio a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono. A 5 mL desta solução, adicionar 0,1 mL de solução de fenolftaleína SI. Desenvolve-se coloração rósea. Sob aquecimento ocorre liberação de gás e a coloração da solução muda para vermelho.

B. Satisfaz às reações dos íons carbonato e bicarbonato **(5.3.1.1)**.

C. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação da amostra a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Amônia (5.3.2.6). Diluir 10 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação* para 15 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para amônia*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I.* A 1,5 g da amostra adicionar ácido sulfúrico 3,5 *M* até cessar a efervescência. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para arsênio*. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Carbonatos. O pH **(5.2.19)** da preparação descrita em *Aspecto da preparação*, recém-preparada, é, no máximo, 8,6.

Cálcio (5.3.2.7). Neutralizar a suspensão de 1 g da amostra em 10 mL de água com ácido clorídrico e diluir para 15 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cálcio*. No máximo 0,01% (100 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). A 7 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*, adicionar 2 mL de ácido nítrico e diluir para 15 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método III.* Dissolver 1,0 g da amostra em 5 mL de ácido clorídrico. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para ferro*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver 2 g da amostra na mistura de 2 mL de ácido clorídrico e 18 mL de água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Suspender 1 g da amostra em 10 mL de água e adicionar ácido clorídrico até neutralizar. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,015% (150 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 1,5 g da amostra em 50 mL de água isenta de dióxido de carbono. Titular com ácido clorídrico *M* SV, utilizando 0,2 mL de alaranjado de metila SI como indicador. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV corresponde a 84,010 mg de $NaHCO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

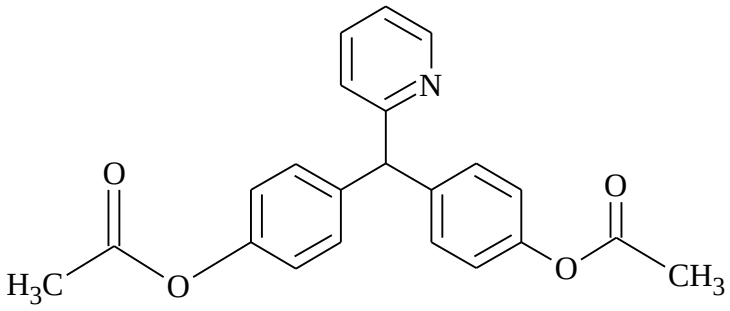
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido.

BISACODIL
Bisacodylum



$C_{22}H_{19}NO_4$; 361,40
bisacodil; 01287
1,1'-Diacetato de 4,4'-(2-piridinilmetileno)bis-fenol
[*603-50-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{22}H_{19}NO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em ácidos minerais diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 131 ºC a 135 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada a 105 ºC, até peso constante, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de bisacodil SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução da amostra a 0,001% (p/v) em hidróxido de potássio metanólico a 0,6% (p/v), há máximo em 248 nm e um ombro em 290 nm. A absorvância em 248 nm é de, aproximadamente, 0,632 a 0,672.

C. Nebulizar a placa cromatográfica obtida em *Substâncias relacionadas* com a mistura de solução de iodo 0,05 *M* e ácido sulfúrico *M* (50:50). A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, corresponde em posição, cor e intensidade àquele obtida com a *Solução (3)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Agitar 1,0 g da amostra com 20 mL de água isenta de dióxido de carbono. Aquecer até fervura, resfriar e filtrar. No máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* é gasto para neutralizar o filtrado, utilizando vermelho de metila SI como indicador. No máximo 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* é gasto para neutralizar o filtrado, utilizando o mesmo indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de xileno e metil-etil-cetona (50:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em acetona e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1,0 mL da *Solução (1)* para 10 mL com acetona.

Solução (3): dissolver 20 mg de bisacodil SQR em acetona e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): diluir 1,0 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetona.

Solução (5): diluir 5,0 mL da *Solução (4)* para 10 mL com acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Se necessário aquecer a placa a 105 ºC. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não deve ser mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (4)* (1,0%) e nenhuma outra mancha deve ser mais intensa que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (5)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,250 g da amostra em 70 mL de ácido acético glacial, adicionar duas gotas de 1-naftolbenzeína SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 36,139 mg de $C_{22}H_{19}NO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Catártico.

BISACODIL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{22}H_{19}NO_4$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Extrair quantidade do pó equivalente a 50 mg de bisacodil com clorofórmio, filtrar, evaporar o filtrado até a secura e dissolver o resíduo com 10 mL de solução de ácido sulfúrico a 0,5% (v/v). A 2 mL da solução obtida, adicionar 50 µL de iodeto de potássio mercúrio SR. Um precipitado branco é formado.

C. A 2 mL da solução obtida no teste **B.** de *Identificação*, adicionar ácido sulfúrico. Desenvolve-se coloração violeta.

D. Ferver 2 mL da solução obtida no teste **B.** de *Identificação* com um pouco de ácido nítrico. Desenvolve-se coloração amarela. Resfriar e adicionar hidróxido de sódio 5 *M*. Desenvolve-se coloração marrom-amarelada.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste. Realizar a etapa ácida em ácido clorídrico 0,1 *M* por 120 minutos. A segunda etapa deve ser realizada com solução de bicarbonato de sódio a 1,5% (p/v) por 60 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar solução com concentração final de 0,5 mg/mL.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de xileno e metiletilcetona (50:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): agitar quantidade de pó equivalente a 20 mg de bisacodil com 2 mL de acetona por 10 minutos, centrifugar e utilizar o sobrenadante líquido.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, que não seja referente aos excipientes, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (3%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 265 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Tampão acetato de sódio 0,074 M: pesar 10,06 g de acetato de sódio tri-hidratado, solubilizar e completar o volume para 1000 mL com água. Ajustar o pH para 7,4 com ácido acético a 2,5% (v/v).

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato de sódio 0,074 M* e acetonitrila (50:50).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de bisacodil para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 12 mL de água. Agitar mecanicamente por 15 minutos e submeter a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, por 15 minutos. Adicionar 50 mL de acetonitrila, agitar mecanicamente e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e centrifugar por 15 minutos. Filtrar o sobrenadante e utilizar o filtrado nas determinações.

Solução padrão: dissolver quantidade de bisacodil SQR, pesada com exatidão, em acetonitrila e diluir adequadamente, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{19}NO_4$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BISACODIL SUPOSITÓRIOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{22}H_{19}NO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas*. Aplicar na placa cromatográfica 2 µL de cada uma das soluções e utilizar bisacodil SQR a 1% (p/v) em acetona, como *Solução (2)*. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)* corresponde àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Dissolver quantidade de supositórios contendo o equivalente a 0,15 g de bisacodil em 150 mL de éter de petróleo. Filtrar, lavar o resíduo com éter de petróleo até que esteja isento de material oleoso e secar a 100 ºC. Dissolver o resíduo em quantidade mínima de clorofórmio, levemente aquecido e solubilizar em 10 mL de ácido sulfúrico a 0,5% (v/v). A 2 mL da solução obtida, adicionar 50 µL de iodeto de potássio mercúrio SR. Um precipitado branco é formado.

D. A 2 mL da solução obtida no teste **C.** de *Identificação*, adicionar ácido sulfúrico. Desenvolve-se coloração violeta.

E. Ferver 2 mL da solução obtida no teste **C.** de *Identificação* com um pouco de ácido nítrico. Desenvolve-se coloração amarela. Resfriar e adicionar hidróxido de sódio 5 *M*. Desenvolve-se coloração marrom-amarelada.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de xileno e metiletilcetona (50:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): agitar quantidade de supositórios contendo o equivalente a 20 mg de bisacodil com 20 mL de éter de petróleo e filtrar. Lavar o resíduo com éter de petróleo até que esteja isento do material oleoso e dissolver em 2 mL de acetona.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (3%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver quantidade de supositórios contendo o equivalente a 0,1 g de bisacodil em 80 mL de ácido acético glacial, previamente neutralizado com ácido perclórico 0,02 *M* SV, utilizando 1-naftolbenzeína SI para verificar a neutralização. Titular com ácido perclórico 0,02 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,02 *M* SV equivale a 7,228 mg de $C_{22}H_{19}NO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Bisacodil comprimidos***.** Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir quantidade de supositórios contendo o equivalente a 0,1 g de bisacodil para funil de separação de 500 mL e adicionar 150 mL de *n*-hexano. Agitar mecanicamente até que os supositórios estejam dissolvidos. Adicionar 50 mL de acetonitrila, agitar por 1 minuto e aguardar a separação das fases. Transferir a fase inferior para balão volumétrico de 200 mL. Extrair o conteúdo remanescente no funil de separação com duas porções de 50 mL de acetonitrila, reunir as camadas inferiores no balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com acetonitrila. Agitar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{19}NO_4$ nos supositórios a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

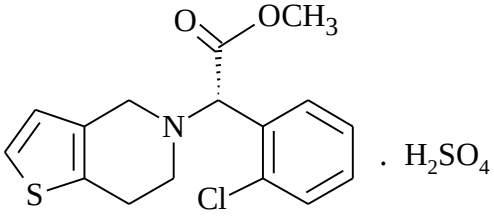
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BISSULFATO DE CLOPIDOGREL

Clopidogreli hydrogenosulfas



$C_{16}H_{16}ClNO_2S.H_2SO_4$; 419,89
bissulfato de clopidogrel; 02319
Acetato de metil (2*S*)-(2-clorofenil) [6,7-diidrotieno[3,2-*c*]piridina-5(4*H*)-il], sulfato (1:1)
[*120202-66-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{16}H_{16}ClNO_2S.H_2SO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +54,0 a +58,0, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de bissulfato de clopidogrel SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica gel OJ para separação quiral (10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de heptano e álcool etílico anidro (85:15).

Solução amostra: dissolver 0,1 g da amostra em 25 mL de álcool etílico anidro e diluir para 50 mL com heptano.

Solução padrão: dissolver 10 mg de *clopidogrel para avaliação da adequabilidade do sistema SQR* (contendo as impurezas B e C) em 2,5 mL de álcool etílico anidro e diluir para 5 mL com heptano.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para a impureza C e de 0,7 para a impureza B. A resolução entre os picos das impurezas C e B é de, no mínimo, 2,0. A relação sinal-ruído é de, no mínimo, 20 para a impureza C.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, 1,25 vezes o tempo de retenção do clopidogrel. Calcular o teor da impureza C. No máximo 0,5%.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupos octadecilsilano (5 µm), com base desativada, mantida a 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Diluente: mistura de acetonitrila e *Eluente A* (60:40).

Eluente A: mistura de pentanosulfonato de sódio monoidratado 0,96 g/L, com pH ajustado para 2,5 com ácido fosfórico, e álcool metílico (95:5).

Eluente B: mistura de acetonitrila e álcool metílico (95:5).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 3	89,5	10,5	isocrática
3 - 48	89,5 → 31,5	10,5 → 68,5	gradiente linear
48 - 68	31,5	68,5	isocrática

Solução (1): dissolver 65 mg da amostra, pesada com exatidão, no *Diluente*, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com auxílio do *Diluente* e homogeneizar. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com auxílio do *Diluente* e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 5 mg de *clopidogrel impureza A SQR* no *Diluente*, diluir para 25 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução de resolução: dissolver 32 mg de *clopidogrel para avaliação da adequabilidade do sistema SQR* (contendo as impurezas B e C) no *Diluente*, adicionar 0,5 mL da *Solução (3)*, diluir para 5 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. O tempo de retenção relativo da impureza A é de, aproximadamente, 0,4 e da impureza B, de 1,1, em relação ao pico principal.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza relatada. No máximo duas vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para a impureza A (0,2%). No máximo três vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para a impureza B (0,3%). No máximo a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para outras impurezas (0,1%). No máximo cinco vezes a área sob o pico

principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para impurezas totais (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,16 g da amostra em uma mistura de 10 mL de acetona, 10 mL de álcool metílico e 30 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Pode ocorrer a formação de precipitado durante a titulação. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 20,99 mg de $C_{16}H_{16}ClNO_2S.H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Inibidor da agregação plaquetária.

BISSULFATO DE CLOPIDOGREL COMPRIMIDOS

Comprimidos de bissulfato de clopidogrel contêm o equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{16}ClNO_2S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 300 nm, da solução amostra obtida em *Procedimento para uniformidade de conteúdo*, há máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda daqueles observados no espectro obtido com a solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 30 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar com filtro de 0,45 μm de porosidade. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 270 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão ácido clorídrico pH 2,0, 1000 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar imediatamente e diluir em tampão ácido clorídrico pH 2,0, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 240 nm **(5.2.14)**, utilizando tampão ácido clorídrico pH 2,0 para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{16}ClNO_2S$ dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de bissulfato de clopidogrel SQR contendo o equivalente a 0,003% (p/v) de clopidogrel, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{16}ClNO_2S$ se dissolve em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 220 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada à proteína ovomucoide, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 0,1 *M* e acetonitrila (75:25).

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de clopidogrel para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar cerca de 30 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Agitar mecanicamente por 30 minutos e completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico.

Solução padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg de clopidogrel e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver em 5 mL de álcool metílico, com auxílio de banho de ultrassom, se necessário. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{16}ClNO_2S$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BORATO DE SÓDIO

Natrii boras

$Na_2B_4O_7$; 201,22
borato de sódio; 00117
Óxido sódico de boro
[*1330-43-4*]

$Na_2B_4O_7.10H_2O$; 381,37
borato de sódio decaidratado; 10051
Bórax
[*1303-96-4*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 105,0% de $Na_2B_4O_7.10H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Solúvel em água, muito solúvel em água em ebulição, facilmente solúvel em glicerol, insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,2 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e completar para 5 mL com o mesmo solvente. Adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. Desenvolve-se coloração vermelha. Adicionar 5 mL de glicerol a 85% (v/v). A coloração desaparece.

B. A solução preparada de maneira idêntica à solução do teste **A.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon borato **(5.3.1.1)**.

C. A solução preparada de maneira idêntica à solução do teste **A.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 8 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 9,0 a 9,6. Determinar na preparação obtida em *Aspecto da preparação*.

Carbonato e bicarbonato. Em tubo de ensaio adicionar 5 mL de solução aquosa da amostra a 5% (p/v) e 1 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Não ocorre efervescência.

Sulfatos (5.3.2.2). Utilizar 25 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. Preparar a solução padrão utilizando 3 mL da solução padrão de sulfato e 12 mL de água. No máximo 0,005% (50 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito no *Método I*. Preparar solução padrão utilizando *Solução padrão de chumbo (1 ppm)*. No máximo 0,0025% (25 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Utilizar 12,5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para arsênio*. No máximo 0,0005% (5 ppm).

Amônia (5.3.2.6). Diluir 3 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 14 mL com água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para amônia*. Preparar a solução padrão utilizando mistura de 2,5 mL da *Solução padrão de amônia (1 ppm)* e 7,5 mL de água. No máximo 0,001% (10 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Utilizar 7,5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cálcio*. Preparar a solução padrão utilizando mistura de 6 mL da *Solução padrão de cálcio (10 ppm)* e 9 mL de água. No máximo 0,01% (100 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra e dissolver em 50 mL de água. Adicionar algumas gotas de vermelho de metila SI e titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV equivale a 19,069 mg de $Na_2B_4O_7.10H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

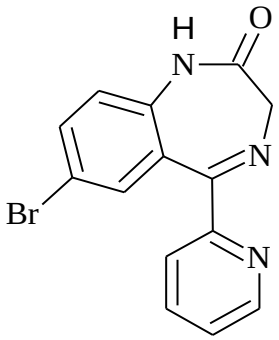
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente antisséptico, detergente, adstringente para mucosas.

BROMAZEPAM

Bromazepamum



$C_{14}H_{10}BrN_3O$; 316,15
bromazepam; 01366
7-Bromo-1,3-di-hidro-5-(2-piridinil)-2*H*-1,4-benzodiazepin- 2-ona
[*1812-30-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{14}H_{10}BrN_3O$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou ligeiramente amarelado.

Solubilidade. Insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 237 ºC a 238,5 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada até peso constante, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de bromazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14),** na faixa de 220 nm a 350 nm, da solução a 0,0005% (p/v) em álcool metílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de bromazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de dietilamina e éter etílico (30:70), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9).

Solução (2): solução a 1 mg/mL de bromazepam SQR em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool etílico, trietilamina, cloreto de metileno e éter de petróleo (5:5:20:70), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir. O ensaio deve ser realizado ao abrigo da luz.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9).

Solução (2): diluir a *Solução (1)* em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9), de modo a obter solução da amostra a 20 µg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar em corrente de ar por 20 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 80 ºC, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo 0,2%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g de amostra, dissolver em 20 mL de ácido acético glacial e adicionar 50 mL de anidrido acético. Titular com solução de ácido perclórico 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 31,615 mg de $C_{14}H_{10}BrN_3O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Ansiolítico.

BROMAZEPAM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{10}BrN_3O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14),** na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila e hidróxido de amônio a 25% (v/v) (100:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 25 mg de bromazepam e adicionar 10 mL de álcool metílico. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 2,5 mg/mL de bromazepam SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. *Procedimento para uniformidade de conteúdo. Realizar o preparo das soluções ao abrigo da luz*. Pesar individualmente e transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*, a partir de "Adicionar 70 mL de ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M*...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: fluido gástrico simulado (com enzima), 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 20 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar, resfriar a 20 ºC e diluir, se necessário, em fluido gástrico simulado (sem enzima) até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 239 nm **(5.2.14)**, utilizando fluido gástrico simulado (sem enzima) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}BrN_3O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de bromazepam SQR na concentração de 0,00033% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{10}BrN_3O$ se dissolve em 20 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Nota: *realizar o preparo das soluções ao abrigo da luz.*

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, equivalente a 60 mg de bromazepam, para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M* e deixar em banho de ultrassom por 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, centrifugar e filtrar, se necessário. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,0006% (p/v), utilizando o mesmo solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 239 nm, utilizando ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}BrN_3O$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

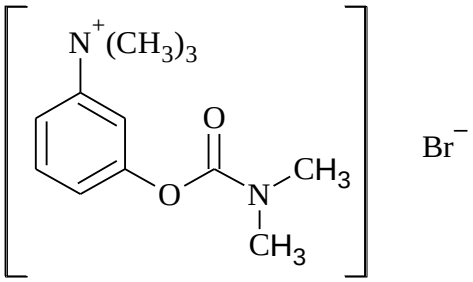
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BROMETO DE NEOSTIGMINA

Neostigmini bromidum



$C_{12}H_{19}BrN_2O_2$; 303,20
brometo de neostigmina; 06287
Brometo de 3-[[(dimetilamino)carbonil]oxi]-*N*,*N*,*N*-trimetilbenzenamínio
[*114-80-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco, ou cristais incolores. É higroscópico. Suas soluções são neutras ao papel de tornassol.

Solubilidade. Muito solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 171 ºC a 176 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 105 ºC por três horas, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de brometo de neostigmina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A solução aquosa na proporção 1:50 satisfaz às reações do brometo **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Sulfato. Dissolver 0,25 g da amostra em 10 mL de água, adicionar 1 mL de ácido clorídrico e 1 mL de cloreto de bário. Não produz turbidez imediatamente.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar a amostra a 105 ºC por três horas. No máximo 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,15%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,75 g da amostra em mistura de 70 mL de ácido acético glacial e 20 mL de acetato de mercúrio SR. Adicionar quatro gotas de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até cor azul-esverdeada. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 30,32 mg de $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Colinérgico.

BROMETO DE SÓDIO

Natrii bromidum

NaBr; 102,89
brometo de sódio; 01445
Brometo de sódio
[*7647-15-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de NaBr, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou cristais incolores ou opacos, ligeiramente higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon brometo **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 10% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Transferir 10 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em água isenta de dióxido de carbono e completar o volume com o mesmo solvente. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,1 mL de azul de bromotimol SI. Não é necessário mais que 0,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* ou hidróxido de sódio 0,01 *M* para promover a viragem do indicador.

Brometos. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 1 mL de solução de amido SI, 0,1 mL de uma solução de iodeto de potássio 10% (p/v) e 0,25 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M*. Proteger da luz por cinco minutos. Não deve ser desenvolvida coloração azul ou violeta.

Cloretos. Transferir 1 g da amostra para erlenmeyer e dissolver em 20 mL de ácido nítrico a 20% (p/v). Adicionar 5 mL de peróxido de hidrogênio concentrado e aquecer em banho-maria até a solução ser completamente descolorida. Lavar as paredes do frasco com um pouco de água e aquecer em banho-maria por 15 minutos. Resfriar, diluir para 50 mL com água, adicionar 5 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV e 1 mL de ftalato de dibutila. Homogeneizar e titular com solução de tiocianato de amônio 0,1 *M* SV, utilizando 5 mL de solução de sulfato férrico amoniacal SR como indicador. No máximo 1,7 mL de solução de nitrato de prata 0,1 *M* SV são necessários para promover viragem do indicador (0,6%). Registrar o volume de nitrato de prata 0,1 *M* SV utilizado.

Iodetos. A 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,15 mL de cloreto férrico SR e 2 mL de clorofórmio. Agitar e observar as fases. A fase clorofórmica é incolor.

Sulfatos (5.3.2.2). Utilizar 15 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,01% (100 ppm).

Bário. A 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 5 mL de água destilada e 1 mL de ácido sulfúrico diluído SR. Após 15 minutos, qualquer opalescência observada não é mais intensa do que a mistura de 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e 6 mL de água.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Utilizar 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*. Preparar uma solução referência utilizando *solução de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Diluir 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 10 mL com água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para ferro*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Magnésio e metais alcalinos terrosos (5.3.2.9). Utilizar 10 g de amostra e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para magnésio e metais alcalinos terrosos*. O volume de edetato dissódico 0,01 *M* SV utilizado é de, no máximo, 5 mL. No máximo 0,02% (200 ppm), calculados como cálcio.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra, em estufa entre 100 ºC e 105 ºC, por três horas. No máximo 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir, quantitativamente, cerca de 2 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em água e completar o volume com mesmo solvente. A 10 mL dessa solução, adicionar 50 mL de água, 5 mL de ácido nítrico 20% (p/v), 25 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV, 2 mL de ftalato de dibutila e homogeneizar. Titular com tiocianato de amônio 0,1 *M* SV, utilizando 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR como indicador, agitando vigorosamente, até a viragem do indicador. Corrigir o volume, subtraindo o volume de nitrato de prata 0,1 M SV gasto no teste para *Cloretos* em *Ensaios de pureza*. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 10,289 mg de NaBr.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

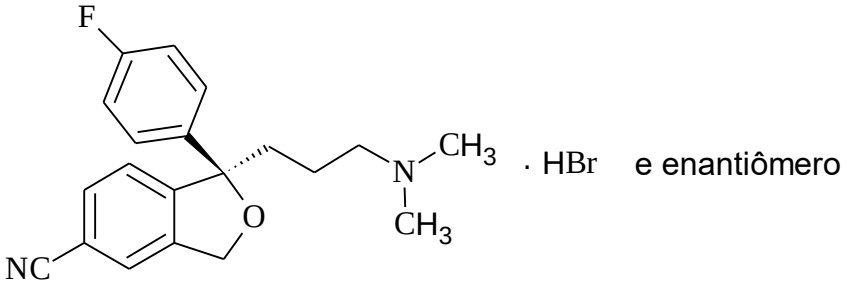
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Sedativo, hipnótico, anticonvulsivante.

BROMIDRATO DE CITALOPRAM

Citaloprami hydrobromidum



$C_{20}H_{21}FN_2O.HBr$; 405,30
bromidrato de citalopram; 02162
Bromidrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-1-(4-fluorfenil)- 1,3-di-hidro-5-isobenzofurancarbonitrila (1:1)
[*59729-32-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{20}H_{21}FN_2O.HBr$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em álcool metílico e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 182 ºC a 189 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de bromidrato de citalopram SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em 239 nm, idêntico ao observado no espectro de bromidrato de citalopram SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de água, álcool butílico e ácido acético (15:12:3), como fase móvel. Preparar a fase móvel com 24 horas de antecedência e desprezar a camada orgânica. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em água.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de bromidrato de citalopram SQR em água.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

E. Satisfaz às reações do íon brometo **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,25 g da amostra. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, o equivalente a 10 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em ácido clorídrico 0,1 *M* e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 239 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{20}H_{21}FN_2O.HBr$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 239 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de trietilamina a 0,3% (v/v), com pH ajustado para 6,6 com ácido fosfórico, e acetonitrila (55:45).

Solução amostra: transferir o equivalente a 10 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 40 μg/mL.

Solução padrão: transferir o equivalente a 10 mg de bromidrato de citalopram SQR, pesado com exatidão, para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 40 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{21}FN_2O.HBr$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

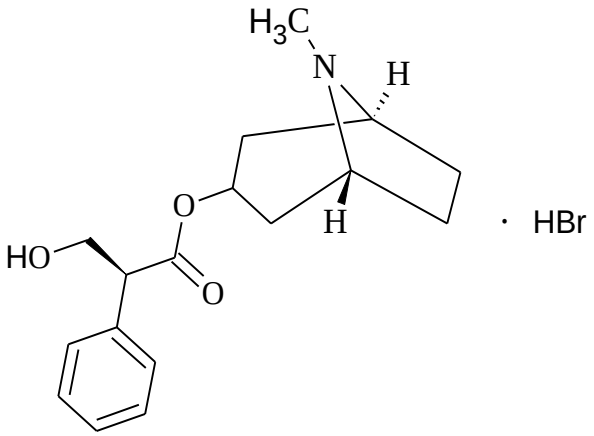
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

BROMIDRATO DE HIOSCIAMINA

Hyoscyamini hydrobromidum



$C_{17}H_{23}NO_3$.HBr; 370,29
bromidrato de hiosciamina; 04727
Bromidrato do éster (α*S*)-(3-endo)-8-metil-8-azabiciclo [3.2.1] octa-3-ílico do ácido α-(hidroximetil) benzenoacético
[*306-03-6*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 100,5% de $C_{17}H_{23}NO_3$.HBr em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco. Deliquescente ao ar e sensível à luz.

Solubilidade. Muito solúvel em água e em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Colocar 10 mg da amostra em cápsula de porcelana, adicionar cinco gotas de ácido nítrico e aquecer em banho-maria até completa evaporação. Ao resíduo, após resfriamento, adicionar algumas gotas de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M*. É produzida coloração violeta.

B. A 1 mL de solução aquosa a 5% (p/v) da amostra, adicionar cloreto de ouro SR gota a gota, até a formação de precipitado. Adicionar pequena quantidade de ácido clorídrico diluído e aquecer até dissolução do precipitado. Após o resfriamento devem ser formadas pequenas lâminas lustrosas, castanho avermelhadas, que podem ser acompanhadas de agulhas, com a mesma coloração (distinção entre atropina e escopolamina).

C. A uma solução aquosa a 5% (p/v) da amostra, adicionar nitrato de prata SR. É formado um precipitado branco-amarelado, insolúvel em ácido nítrico.

ENSAIOS DE PUREZA

Outros alcaloides. Dissolver 250 mg da amostra em 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, diluir com água para 15 mL e separar em duas porções. A uma porção de 5 mL da solução adicionar algumas gotas de cloreto platínico SR; não deve formar precipitado imediatamente. À outra porção de 5 mL da

solução, adicionar 2 mL de amônia SR; a mistura poderá desenvolver leve opalescência, mas não deverá apresentar turvação, nem precipitação imediata.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver cerca de 700 mg da amostra, pesados com exatidão, em mistura de 50 mL de ácido acético glacial e 10 mL de acetato de mercúrio SR. Adicionar uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até o aparecimento de cor azul-esverdeada. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 37,028 mg de $C_{17}H_{23}NO_3$.HBr.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos e opacos.

ROTULAGEM

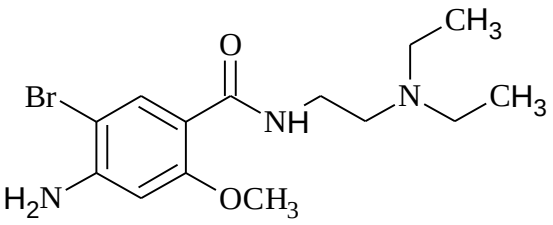
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Anticolinérgico.

BROMOPRIDA

Bromopridum



$C_{14}H_{22}BrN_3O_2$; 344,25
bromoprida; 01471
4-Amino-5-bromo-*N*-[2-(dietilamino)etil]-2-metoxibenzamida
[*4093-35-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco a branco marfim.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Ligeiramente solúvel em acetonitrila. Pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 151 ºC a 155 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de bromoprida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 274 nm, idêntico ao observado no espectro de bromoprida SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 0,5 *M*. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)**.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,003% (30 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 ºC, por 4 horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,17 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 150 mL e dissolver em 80 mL de ácido acético glacial. Adicionar 2 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 34,425 mg de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e deixar em banho de ultrassom por 10 minutos, completando o volume com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 274 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiemético.

BROMOPRIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 274 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo: triturar cada comprimido até pó fino, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração de 0,001% (p/v) e prosseguir conforme descrito em *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 500 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias das soluções em 274 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de bromoprida SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$ se dissolve em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a cerca de 10 mg de bromoprida para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e deixar em banho de

ultrassom, por 10 minutos. Completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 274 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BROMOPRIDA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,8 a 3,7.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 310 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo fenil (5 mm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão pH 7,0: dissolver 1,361 g de fosfato de potássio monobásico em 900 mL de água, adicionar 2 mL de trietilamina, ajustar o pH para 7,0 ± 0,05 com ácido fosfórico e diluir para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 7,0* e acetonitrila (60:40).

Diluente: mistura de água e acetonitrila (3:2).

Solução amostra: transferir volume da amostra equivalente a 8 mg de bromoprida para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar, obtendo-se solução a 80 µg/mL.

Solução padrão: Transferir 40 mg de bromoprida SQR para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em acetonitrila e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Diluente*, obtendo solução a 80 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 3500 pratos teóricos/metro. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de bromoprida é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$ na solução oral, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

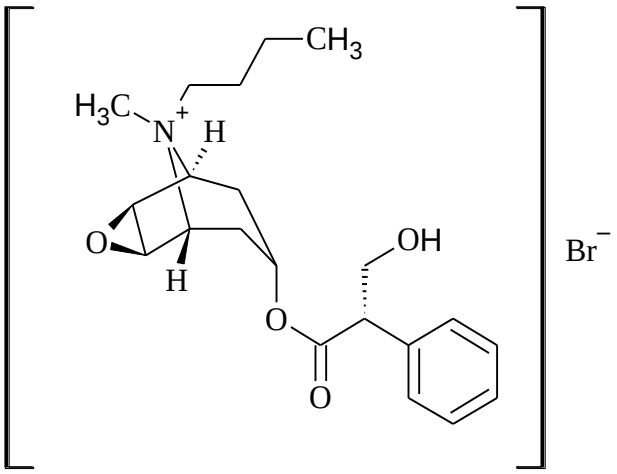
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BUTILBROMETO DE ESCOPOLAMINA

Scopolamini butylbromidum



$C_{21}H_{30}BrNO_4$; 440,38
butilbrometo de escopolamina; 03517
Brometo de (1*α*,2*β*,4*β*,5*α*,7*β*)-9-butil-7-[(2*S*)-3-hidroxi-1-oxo-2-fenilpropoxi]-9-metil-3-oxa-9-azoniatriciclo[3.3.1.02,4] nonano
[*149-64-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{21}H_{30}BrNO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 139 ºC a 141 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -18 a -20, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 10% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

O teste **A.** pode ser *omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.** *O teste B pode ser omitido se forem realizados os testes* **A.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de butilbrometo de escopolamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Satisfaz às reações do íon brometo **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,5 a 6,5. Determinar em solução a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método ***B.*** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir:

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 10 mL com auxílio da *Fase móvel*. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 10 mg de bromidrato de escopolamina SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): transferir 5 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução de resolução: a 10 mL da *Solução (2)*, adicionar 10 µL da *Solução (1)*.

Injetar 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre escopolamina e butilescopolamina é de, no mínimo, 5. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de escopolamina é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)*, *Solução (2)* e *Solução (3)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente à escopolamina eventualmente presente no cromatograma obtido com a *Solução (1)*, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,1%). A área de qualquer outro pico secundário obtido com a *Solução (1)*, com exceção do pico correspondente à escopolamina, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). Desconsiderar os picos referentes ao solvente e ao íon brometo, que aparecem no início do cromatograma.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo 2,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra e dissolver em 50 mL de água. Titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Utilizar eletrodo indicador de prata e eletrodo de referência de prata-cloreto de prata. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV corresponde a 44,037 mg de $C_{21}H_{30}BrNO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: 2 g de laurilsulfato de sódio em mistura de ácido clorídrico 0,001 *M* e álcool metílico (370:680).

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em ácido clorídrico 0,001 *M* para obter solução a 0,4 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de butilbrometo de escopolamina SQR, pesada com exatidão, em ácido clorídrico 0,001 *M*, para obter solução a 0,4 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{21}H_{30}BrNO_4$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiespasmódico.

BUTILBROMETO DE ESCOPOLAMINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{21}H_{30}BrNO_4$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 50 mg de butilbrometo de escopolamina com 20 mL de clorofórmio. Filtrar, evaporar até secura e ressuspender o resíduo com 5 mL de acetonitrila. Evaporar até secura a 50 ºC, sob pressão reduzida, por 1 hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de butilbrometo de escopolamina SQR.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade de pó equivalente a 50 mg de butilbrometo de escopolamina com 20 mL de clorofórmio. Filtrar, evaporar até secura, ressuspender o resíduo com 50 mL de água e filtrar. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** do filtrado, na faixa de 230 nm a 350 nm, há máximos de absorção em 252 nm, 257 nm e 264 nm.

C. Utilizar 1 mg do resíduo obtido no método **A.** de *Identificação* dessa monografia e proceder conforme descrito no método **B.** de *Identificação* da monografia de *Butilbrometo de escopolamina*.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 25 mL e adicionar 15 mL de ácido clorídrico 0,001 *M*. Agitar mecanicamente por 15 minutos para desintegrar o comprimido. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e centrifugar por 15 minutos. e Se necessário, filtrar o sobrenadante. Prosseguir conforme descrito no método de *Doseamento*.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de escopolamina. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Butilbrometo de escopolamina*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a cerca de 0,1 g de butilbrometo de escopolamina, pesado com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL, adicionar volume de ácido clorídrico 0,001 *M* suficiente para dissolver o fármaco e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. banho de ultrassomSe necessário, filtrar o sobrenadante.

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 10 mg de bromidrato de escopolamina SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,001 *M* e homogeneizar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução de resolução: transferir 10 µL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Solução (2)* e homogeneizar. .

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de escopolamina e butilescopolamina é de, no mínimo, 5. O desvio padrão relativo das áreas sob os picos registrados entre as replicatas é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente à escopolamina, obtido com a *Solução (1),* não deve ser maior do que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de ácido fórmico, água, álcool etílico e cloreto de metileno (0,5:1,5:9:9), como fase móvel. Aplicar, separadamente, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir, e permitir que a fase móvel migre em torno de 4 cm acima do ponto de aplicação na placa cromatográfica.

Solução (1): pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a cerca de 20 mg de butilbrometo de escopolamina para balão volumétrico de 5 mL. Adicionar volume de ácido clorídrico 0,01 *M* suficiente para dissolver o fármaco e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Centrifugar por 15 minutos. Se necessário, filtrar o sobrenadante.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* para 100 mL com ácido clorídrico 0,01 *M*.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 50 mL com ácido clorídrico 0,01 *M*.

Solução (4): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 400 mL com ácido clorídrico 0,01 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar em estufa a 60 ºC durante 15 minutos e nebulizar com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR. Deixar a placa secar, nebulizar com nitrito de sódio a 5% (p/v) e examinar imediatamente. A mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (1)* apresenta Rf de aproximadamente 0,45. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma da *Solução (1),* com Rf menor que o da mancha principal, não é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (2)* (3%); e no máximo duas manchas são mais intensas do que a mancha obtida com a *Solução (4)* (0,25%). Qualquer mancha secundária, com Rf maior que o da mancha principal, não é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (3)* (2%); e no máximo uma mancha é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (4)* (0,25%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Butilbrometo de escopolamina*. Preparar a solução amostra como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 40 mg de butilbrometo de escopolamina para balão volumétrico de 100 mL, acrescentar 60 mL de ácido clorídrico 0,001 *M*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e centrifugar por 15 minutos. Se necessário, filtrar o sobrenadante.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{30}BrNO_4$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

BUTILBROMETO DE ESCOPOLAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{21}H_{30}BrNO_4$. Pode ser preparada em água para injetáveis ou em outro solvente adequado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Utilizar volume da solução injetável equivalente a 0,1 g de butilbrometo de escopolamina. Evaporar até secura e ressuspender o resíduo com clorofórmio. Evaporar até secura e ressuspender o resíduo com 5 mL de acetonitrila. Evaporar até secura, a 50 ºC, sob pressão reduzida, por 1 hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de butilbrometo de escopolamina SQR.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da *Solução amostra* obtida em *Doseamento*, há máximos de absorção em 252 nm, 257 nm e 264 nm.

C. Utilizar 1 mg do resíduo obtido no método **A.** de *Identificação* dessa monografia e proceder conforme descrito no método **B.** de *Identificação* da monografia de *Butilbrometo de escopolamina*.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,7 a 5,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de escopolamina. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Butilbrometo de escopolamina*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): diluir, se necessário, volume de solução injetável em ácido clorídrico 0,001 M para preparar solução a 10 mg/mL.

Solução (2): pesar, com exatidão, 10 mg de bromidrato de escopolamina SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,001 *M* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução de resolução: transferir 10 µL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Solução (2)* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de escopolamina e butilescopolamina é de, no mínimo, 5. O desvio padrão relativo das áreas sob os picos registrados entre as replicatas é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente à escopolamina obtida com a *Solução (1),* não deve ser maior do que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de ácido fórmico, água, álcool etílico e cloreto de metileno (0,5:1,5:9:9), como fase móvel. Aplicar, separadamente, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir e permitir que a fase móvel migre em torno de 4 cm acima do ponto de aplicação, na placa cromatográfica.

Solução (1): diluir, se necessário, volume de amostra para preparar solução a 20 mg/mL de butilbrometo de escopolamina em ácido clorídrico 0,01 *M*.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* para 100 mL com ácido clorídrico 0,01 *M*.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 50 mL com ácido clorídrico 0,01 *M*.

Solução (4): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 400 mL com ácido clorídrico 0,01 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar com a 60 ºC durante 15 minutos e nebulizar com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR. Deixar a placa secar e nebulizar com nitrito de sódio a 5% (p/v) e examinar imediatamente. A mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (1)* apresenta Rf de aproximadamente 0,45. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma da *Solução (1),* com Rf menor que o da mancha principal, não é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (2)* (3%) e no máximo duas manchas são mais intensas do que a mancha obtida com a *Solução (4)* (0,25%). Qualquer mancha secundária, com Rf maior que o da mancha principal, não é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (3)* (2%) e não mais do que uma mancha é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (4)* (0,25%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 555 UE/mg de butilbrometo de escopolamina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Butilbrometo de escopolamina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir volume de solução injetável equivalente a 40 mg de butilbrometo de escopolamina para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,001 *M* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{30}BrNO_4$ na solução injetável, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

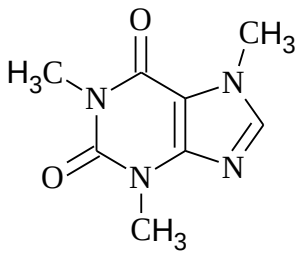
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CAFEÍNA
Coffeinum



$C_8H_{10}N_4O_2$; 194,19
cafeína; 01642
3,7-di-hidro-1,3,7-trimetil-1*H*-purina-2,6-diona
[*58-08-2*]

$C_8H_{10}N_4O_2.xH_2O$;
cafeína hidratada; 11382
3,7-di-hidro-1,3,7-trimetil-1*H*-purina-2,6-diona, hidratada (1:1)
[*75639-14-4*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_8H_{10}N_4O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou cristais aciculares brancos e brilhantes. Sublima facilmente sob a ação do calor. A forma hidratada é eflorescente ao ar.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 235 ºC a 239 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cafeína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver cerca de 5 mg da amostra em 1 mL de ácido clorídrico em vidro de relógio ou cápsula de porcelana, adicionar 50 mg de clorato de potássio e evaporar em banho-maria até secura. Inverter o vidro de relógio sobre outro contendo uma pequena quantidade de hidróxido de amônio 6 *M*. O resíduo adquire uma coloração púrpura, que desaparece com a adição de hidróxido de sódio *M*.

C. A 2 mL de uma preparação aquosa saturada da amostra, adicionar 0,1 mL de iodo SR. A preparação apresenta-se límpida. Adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico diluído. Forma-se precipitado castanho, que se dissolve após neutralização com solução diluída de hidróxido de sódio.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G_{254}, como suporte, e mistura de amônia, acetona, clorofórmio e álcool butílico (10:30:30:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em mistura de álcool metílico e clorofórmio (4:6) e completar o volume para balão volumétrico de 10 mL.

Solução (2): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e clorofórmio (4:6).

Desenvolver o cromatograma no percurso de 15 cm. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Se aparecerem outras manchas, além da mancha principal, no cromatograma obtido com a *Solução (1),* nenhuma é mais intensa que a mancha do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,5%).

Outros alcaloides. A 5 mL de uma solução a 0,02% (p/v), adicionar gotas de iodeto de potássio mercúrio SR. Não deve precipitar.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método 1*. No máximo 0,0003% (3 ppm).

Chumbo (5.3.2.12). No máximo 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Misturar 2 g da amostra com 5 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e 10 mL de água e aquecer até dissolução. Após o resfriamento, completar 50 mL e utilizar 25 mL dessa solução para o ensaio de metais pesados. Prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 115 ºC até peso constante. No máximo 0,5% para a cafeína anidra. No máximo 8,5% para a cafeína hidratada.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,4 g da amostra, pesada com exatidão, com aquecimento, em 40 mL de anidrido acético. Esfriar e adicionar 80 mL de tolueno. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 19,47 mg de $C_8H_{10}N_4O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Estimulante central.

CALAMINA

ZnO; 81,41
calamina; 01646
Calamina
[*8011-96-9*]

Calamina é óxido de zinco, com uma pequena proporção de óxido férrico (Fe_2O_3, 159,69), que fornece, após ignição, no mínimo 98,0% e no máximo 100,5% de óxido de zinco (ZnO).

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amorfo, não palpável, róseo ou marrom avermelhado, dependendo da cor da variedade e da quantidade de óxido férrico presente, bem como do processo pelo qual é incorporado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Dissolve, com efervescência, em ácido clorídrico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon zinco **(5.3.1.1)**.

B. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 3 *M*, aquecer à fervura, e filtrar. Há coloração avermelhada após a adição de tiocianato de amônio SR.

ENSAIOS DE PUREZA

Cálcio. Fazer a digestão de 1 g da amostra em 25 mL de ácido clorídrico 3 *M* por 30 minutos. Filtrar, para remover o óxido férrico insolúvel, adicionar hidróxido de sódio 6 *M* ao filtrado, até que o primeiro precipitado que se forma seja redissolvido, e em seguida adicionar mais 5 mL de hidróxido de sódio 6 *M*. A 10 mL dessa solução adicionar 2 mL de oxalato de amônio a 3,5% (p/v). No máximo uma leve turbidez é produzida.

Cálcio ou Magnésio. A outra porção de 10 mL da solução preparada para o teste de *Cálcio*, adicionar 2 mL de fosfato de sódio dibásico hepta-hidratado a 12% (p/v). No máximo uma leve turbidez é produzida.

Chumbo. Para 1 g da amostra, adicionar 15 mL de água, agitar, adicionar então 3 mL de ácido acético glacial e aquecer em banho-maria até dissolver. Filtrar e adicionar cinco gotas de cromato de potássio SR. Nenhuma turvação é observada.

Substâncias insolúveis em ácido. Pesar 2 g e adicionar 50 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Se um resíduo insolúvel remanescer, coletar em um filtro tarado, lavar com água e secar a 105 ºC por 1 hora, esfriar e pesar. O peso do resíduo não excede 40 mg (2,0%).

Substâncias alcalinas. Fazer a digestão de 1 g com 20 mL de água em banho-maria por 15 minutos, filtrar, adicionar duas gotas de fenoftaleína SI. Se uma cor vermelha é produzida, no máximo 0,2 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* é requerido para removê-la.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método 1*. Utilizar solução de ácido sulfúrico 3,5 *M* e solução de cloreto estanoso a 40% (p/v) em ácido clorídrico. O limite é de 0,0008% (8 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Pesar cerca de 2 g da amostra, calcinar a 500 ºC até peso constante. No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Calcinar, quantitativamente, cerca de 1,5 g de calamina. A esta amostra, recentemente calcinada, fazer a digestão com 50 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M* SV, aplicando calor suave, até não ocorrer mais solubilização. Filtrar a mistura e lavar o resíduo no filtro, com água quente, até que a última lavagem seja neutra ao papel de tornassol. Ao filtrado combinado com as lavagens, adicionar 2,5 g de cloreto de amônio, esfriar, adicionar alaranjado de metila SI e titular com hidróxido de sódio *M* SV. Cada mL de ácido sulfúrico 0,5 *M* SV equivale a 40,69 mg de óxido de zinco.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

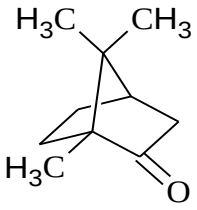
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adstringente; antipruriginoso.

CÂNFORA
Camphora



$C_{10}H_{16}O$; 152,23
cânfora; 01677
1,7,7-Trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona
[*76-22-2*]

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais, brancos ou incolores, massas cristalinas ou grânulos. Volatiliza-se lentamente à temperatura ambiente.

Solubilidade. Pouco solúvel em água; muito solúvel em álcool etílico; facilmente solúvel em óleos fixos e voláteis.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 174 ºC a 179 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +41 a +43 para a cânfora natural. Cânfora sintética é a forma racêmica, opticamente inativa. Determinar em solução a 10% (p/v) em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cânfora SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra a 0,1% (p/v) em álcool etílico, há máximo de absorção em (289 ± 1) nm.

C. À cânfora pulverizada (obtida por tratamento com pequena quantidade de álcool etílico), juntar uma gota de vanilina 1,0% (p/v) e uma gota de ácido sulfúrico; aparecerá uma cor amarela, que passa gradativamente a roxo, violeta e azul. Esta prova é positiva somente para a cânfora natural.

D. Aquecendo-se o pó da cânfora em recipiente coberto com vidro de relógio, obtém-se sublimado composto por cristais periformes isotrópicos reunidos em conjuntos radicais.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 10% (p/v) em hexano é límpida **(5.2.25)**.

Resíduo por evaporação. Aquecer, em banho-maria, 2,0 g da amostra em cápsula tarada, até completa sublimação. Secar o resíduo a 120 ºC durante três horas, esfriar e pesar. O peso do resíduo não deve exceder a 0,05%.

Halogênios. Misturar 0,1 g de cânfora finamente dividida com 0,2 g de peróxido de sódio, em um cadinho de porcelana seco. Aquecer lentamente até a completa incineração. Dissolver o resíduo em 25 mL de água morna, acidificar com ácido nítrico, filtrar a solução e transferir para um tubo de comparação. Lavar o cadinho e o filtro com 10 mL de água quente (duas vezes) e filtrar, adicionando as águas de lavagem à solução filtrada. Ao filtrado, adicionar 0,5 mL de nitrato de prata 0,1 *M*, diluir com água para 50 mL e homogeneizar. A turbidez não deve exceder aquela produzida em ensaio branco, com as mesmas quantidades dos mesmos reagentes e 0,05 mL de ácido clorídrico 0,02 *M* (0,035%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes herméticos. Evitar calor excessivo.

ROTULAGEM

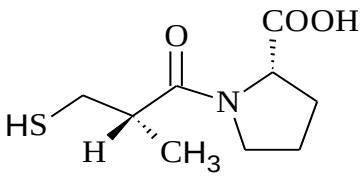
Observar legislação vigente. O rótulo deve indicar a procedência, se natural ou sintética.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antipruriginoso tópico.

CAPTOPRIL

Captoprilum



$C_9H_{15}NO_3S$; 217,29
captopril; 01699
1-[(2*S*)-3-Mercapto-2-metil-1-oxopropil]-L-prolina
[*62571-86-2*]

Contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 102,0% de $C_9H_{15}NO_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 105 ºC a 108 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: –156 a –161, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de captopril SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,0 a 2,6. Determinar em solução a 2% (p/v) da amostra em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as *Soluções teste* como descrito a seguir.

Solução (1): transferir 50 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver com *Fase móvel*, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 10 mg da amostra em 20 mL de *Fase móvel*, adicionar 0,25 mL de iodo 0,05 *M* e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, homogeneizar e completar o volume com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução, registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do captopril e medir as áreas sob os picos. O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresenta três picos e a resolução entre os dois picos de maior tempo de retenção for de, no mínimo, 2,0. Os três picos correspondem, respectivamente, ao excesso de iodo, ao captopril e ao dissulfeto de captopril formado. A área de qualquer pico secundário obtido no cromatograma com a *Solução (1)* é de, no máximo, a metade da área sob o pico principal, obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (1,0%). A soma das áreas de todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a do pico principal, é de, no máximo, a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (2,0%). Não considerar picos referentes ao solvente ou com área inferior a 10% da área sob o pico principal, obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (0,2%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por 3 horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,15 g de amostra para erlenmeyer de 125 mL e dissolver em 50 mL de água. Titular com iodo 0,05 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente ou utilizando 1 mL de amido SI. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 21,729 mg de $C_9H_{15}NO_3S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico a 0,11% (v/v) e álcool metílico (45:55).

***Nota:** proteger as soluções descritas a seguir, da exposição ao ar e utilizá-las dentro de, no máximo, 8 horas.*

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de captopril SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL.

Injetar 20 µL da *Solução (3)* obtida em *Substâncias Relacionadas*. O teste somente é válido se o cromatograma obtido apresentar três picos e a resolução entre os dois picos de maior tempo de retenção for de, no mínimo, 2,0. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_9H_{15}NO_3S$ na amostra, a partir das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo.

CAPTOPRIL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_9H_{15}NO_3S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de tolueno, ácido acético glacial e álcool metílico (75:25:1), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir o equivalente a 0,1 g de captopril para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom por 30 minutos, agitando ocasionalmente. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): preparar solução de captopril SQR a 4 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com difenilcarbazona mercúrica SR. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida no método B. de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de capacidade adequada, contendo 5 mL de água, e aguardar a desintegração total do comprimido. Adicionar volume de mistura de álcool etílico e água (1:1), correspondente à metade da capacidade do balão. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 212 nm **(5.2.14)**, utilizando mistura de álcool etílico e água (1:1) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_9H_{15}NO_3S$ em cada comprimido, a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 M, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 20 minutos.

Procedimento: imediatamente após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 M, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 212 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_9H_{15}NO_3S$ dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de captopril SQR na concentração de 0,0025% (p/v), preparada em ácido clorídrico 0,1 M.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_9H_{15}NO_3S$ se dissolve em 20 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de dissulfeto de captopril. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução teste* e da *Solução amostra*. A área sob o pico relativo ao dissulfeto de captopril, obtido na *Solução amostra*, não deve ser superior à área sob o pico relativo ao dissulfeto de captopril obtido na *Solução teste*. No máximo 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a cerca de 0,15 g de captopril, transferir para erlenmeyer de 125 mL e adicionar 50 mL de água. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Prosseguir conforme descrito no método A. de Doseamento da monografia de *captopril*, a partir de "Titular com iodo 0,05 M SV...".

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico a 0,11% (v/v) e álcool metílico (45:55).

Solução de dissulfeto de captopril: preparar solução a 1 mg/mL de dissulfeto de captopril SQR em *Fase móvel*.

Solução teste: transferir 3 mL da *Solução de dissulfeto de captopril* para balão de 100 mL, completar com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de captopril para balão volumétrico de 50 mL, acrescentar 30 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e agitar mecanicamente durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir 0,1 g de captopril SQR para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 3 mL da *Solução de dissulfeto de captopril* e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são de cerca de 0,5 para o captopril e de 1,0 para o dissulfeto de captopril. A resolução entre os picos de captopril e dissulfeto de captopril deve ser de, no mínimo, 2. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_9H_{15}NO_3S$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

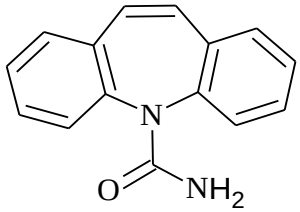
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CARBAMAZEPINA

Carbamazepinum



$C_{15}H_{12}N_2O$; 236,27
carbamazepina; 01710
5*H*-Dibenz[*b,f*]azepina-5-carboxamida
[*298-46-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{12}N_2O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou branco amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 189 ºC a 193 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de carbamazepina SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Pesar 2,5 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 20 mL de água. Agitar, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar. A uma alíquota de 20 mL adicionar uma gota de fenolftaleína SI. Titular com hidróxido de sódio 0,01 *M*. Realizar em paralelo uma prova em branco. No máximo 1 mL é requerido para cada 1 g de amostra. À outra alíquota de 20 mL, adicionar uma gota de vermelho de metila SI. Titular com ácido clorídrico 0,01 *M*. Realizar em paralelo uma prova em branco. No máximo 1 mL é requerido para cada 1 g de amostra.

Substâncias relacionadas.

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de tolueno e álcool metílico (70:30), como fase móvel. Aplicar,

separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, em mistura de clorofórmio e álcool etílico (1:1), descritas a seguir.

Solução (1): solução a 50 mg/mL da amostra.

Solução (2): solução a 0,05 mg/mL da amostra.

Solução (3): solução a 50 mg/mL de carbamazepina SQR.

Solução (4): solução a 0,05 mg/mL de iminodibenzila.

Solução (5): solução a 0,05 mg/mL de carbamazepina substância relacionada B SQR (iminoestilbeno).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm). Nebulizar com dicromato de potássio a 0,5% (p/v) em ácido sulfúrico *M*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é mais intensa que as manchas obtidas com as *Soluções (4) e (5)* (0,1%). Aquecer a 140 ºC por 15 minutos e observar sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm). Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, com valor de Rf menor que a mancha principal, não é mais intensa que a obtida com a *Solução (2)* (0,1%).

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as seguintes soluções.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 100 mg de amostra. Transferir para balão volumétrico de 50 mL, dissolver e completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 25 mL dessa solução para um balão volumétrico de 50 mL, completar com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de carbamazepina SQR, carbamazepina substância relacionada A SQR (10,11-di-hidrocarbamazepina) e carbamazepina substância relacionada B SQR (iminoestilbeno) em álcool metílico, para obter concentração de 0,02 mg/mL de cada substância. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo-se solução a 1 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de carbamazepina SQR e carbamazepina substância relacionada A SQR (10,11-di-hidrocarbamazepina) em álcool metílico, de modo a obter solução a 100 µg/mL e 500 µg/mL, respectivamente. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de carbamazepina substância relacionada A e carbamazepina é de, no mínimo, 1,70. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da Solução *amostra.* Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade em mg de qualquer impureza encontrada na *Solução amostra*, a partir das respostas obtidas. No máximo 0,2% de impurezas individuais e 0,5% de impurezas totais.

Cloretos (5.3.2.1). adicionar 20 mL de água a 0,5 g da amostra e deixar ferver por 10 minutos. Esfriar e filtrar, quantitativamente, para tubo de comparação. No máximo 0,014% (140 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Aquecer, à ebulição, 1 g da amostra em 20 mL de água por 10 minutos, esfriar e filtrar, quantitativamente, para tubo de comparação. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g da amostra. Dessecar em estufa a 100 ºC a 105 ºC, por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

Difração de raios X (5.2.31). O padrão de difração de raios X da amostra, sem tratamento prévio, apresenta máximos de difração somente nos mesmos ângulos daqueles observados no espectro de difração da carbamazepina SQR, preparada de maneira idêntica.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra. Transferir para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão, na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 285 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{15}H_{12}N_2O$ na amostra a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar o cálculo utilizando A (1%, 1 cm) = 490, em 285 nm, em álcool metílico.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: álcool metílico e água (70:30).

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em álcool metílico para obter solução a 2 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com fase móvel e homogeneizar, obtendo-se solução a 0,2 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade de carbamazepina SQR, pesada com exatidão, em álcool metílico para obter solução a 1 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com fase móvel e homogeneizar, obtendo-se solução a 0,2 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da Solução *amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{15}H_{12}N_2O$ na amostra a partir das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticonvulsivante.

CARBAMAZEPINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,0% e, no máximo, 108,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{12}N_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar e pulverizar os comprimidos. Aquecer em banho-maria uma quantidade do pó equivalente a 0,2 g de carbamazepina com 15 mL de acetona. Filtrar. Lavar com duas porções de 5 mL de acetona quente. Evaporar o filtrado até cerca de 5 mL e resfriar em banho de gelo até cristalização. Filtrar os cristais e lavar o filtro com 3 mL de acetona fria. Dessecar em estufa a 70 ºC, sob pressão reduzida, ºCpor 30 minutos. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de carbamazepina SQR, preparado de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, cinco minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 1% (p/v) em água; 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos, com tempos de coleta em 15 e 60 minutos.

Procedimento: retirar alíquotas do meio de dissolução nos tempos determinados e filtrar. Medir as absorvâncias em 285 nm **(5.2.14)**, utilizando o *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{12}N_2O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de carbamazepina SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada em laurilsulfato de sódio a 1% (p/v), com adição prévia de álcool metílico para garantir a solubilização. A concentração de álcool metílico na solução padrão não pode exceder a 1% (v/v).

Tolerância: no mínimo 45% se dissolve em 15 minutos; no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{15}H_{12}N_2O$ se dissolve em 60 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de carbamazepina para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas, até concentração de 0,001% (p/v), utilizando álcool metílico como solvente. Preparar solução padrão, na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 285 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular quantidade de $C_{15}H_{12}N_2O$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos utilizando A (1%, 1 cm) = 490, em 285 nm, em álcool metílico.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Carbamazepina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 100 mg de carbamazepina para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo-se solução a 0,2 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{12}N_2O$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e para a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

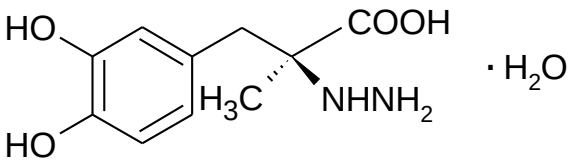
Em recipientes herméticos, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CARBIDOPA

Carbidopum



$C_{10}H_{14}N_2O_4.H_2O$; 244,25
carbidopa monoidratada; 11134
Ácido (2S)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-2-hidrazinil-2-metilpropanoico monoidratado
[*38821-49-7*]

$C_{10}H_{14}N_2O_4$; 226,23
carbidopa; 01731
Ácido (2S)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-2-hidrazinil-2-metilpropanoico
[*28860-95-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{10}H_{14}N_2O_4.H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó branco ou branco-amarelado. Ponto de fusão **(5.2.2)**: em torno de 197 ºC, com decomposição.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e muito pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -21 a -23,5, em relação à amostra monoidratada. Preparar solução da amostra a 10 mg/mL, em solução de cloreto de alumínio a 70% (p/v) (utilizar a forma hexaidratada do sal de alumínio) previamente filtrada e e com pH ajustado para 1,5 utilizando hidróxido de sódio 0,25 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de carbidopa SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 240 nm a 300 nm, de uma solução de carbidopa a 40 µg/mL, em mistura de ácido clorídrico e álcool metílico (9:100), há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de carbidopa SQR, preparado de maneira idêntica.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Impurezas orgânicas. Limite de metildopa e carbidopa composto relacionado A. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução de impurezas padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de metildopa SQR e carbidopa substância relacionada A SQR em *Fase móvel*, de modo a obter solução com concentração de 2,5 µg/mL de cada uma dessas impurezas.

Os tempos de retenção relativos da metildopa, carbidopa e carbidopa substância relacionada A são de cerca de 0,8, 1,0 e 1,8, respectivamente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução de impurezas padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de metildopa e de carbidopa substância relacionada A segundo a expressão:

$$Porcentagem\ de\ impureza = \left(\frac{r_U}{r_S}\right) \times \left(\frac{C_S}{C_U}\right) \times 100$$

em que

r_U = área sob o pico da metildopa ou carbidopa substância relacionada A da *Solução amostra*;
r_s = área sob o pico da metildopa ou carbidopa substância relacionada A da *Solução de impurezas padrão*;
C_s = concentração de metildopa SQR ou carbidopa substância relacionada A SQR na *Solução de impurezas padrão* (µg/mL);
C_U = concentração da *Solução amostra* (µg/mL).

A amostra deve apresentar, no máximo, 0,5% de metildopa e, no máximo, 0,5% de carbidopa substância relacionada A.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 100 ºC, sob pressão reduzida de, no máximo, 5 mmHg, até peso constante. Esfriar e pesar. Perde de 6,9% a 7,9% do seu peso.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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; 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.

Fase móvel: mistura de álcool etílico e fosfato de sódio monobásico 0,05 M com pH ajustado para 2,7 com ácido fosfórico (5:95).

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel* para obter solução com concentração de 0,5 mg/mL de carbidopa.

Solução padrão: dissolver quantidade de carbidopa SQR, pesada com exatidão, na *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Utilizar aquecimento suave e banho de ultrassom, se necessário, para dissolver.

Solução de adequabilidade do sistema: preparar solução a 0,1 mg/mL de carbidopa SQR e 0,1 mg/mL de metildopa SQR utilizando *Fase móvel* como diluente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de adequabilidade do sistema* e da *Solução padrão.* A resolução entre metildopa e carbidopa deve ser de, no mínimo, 0,9 nos cromatogramas obtidos com a *Solução de adequabilidade do sistema.* O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de carbidopa, obtidas com a *Solução padrão*, deve ser de, no máximo, 1,5%.

Nota: *o tempo de retenção relativo da metildopa e carbidopa é cerca de 0,8 e 1,0, respectivamente.*

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de $C_{10}H_{14}N_2O_4.H_2O$ na amostra a partir das respostas obtidas com *a Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente dopaminérgico.

CARBONATO BÁSICO DE BISMUTO

Bismuthi subcarbonas

$(BiO)_2CO_3$; 509,97
carbonato básico de bismuto; 01747
Óxido de carbonato de bismuto
[*5892-10-4*]

Contém, no mínimo, 97,6% e, no máximo, 100,7% de $(BiO)_2CO_3$, em relação à substância dessecada, equivalente a, no mínimo, 80,0% e, no máximo, 82,5% de bismuto.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e álcool etílico. Dissolve-se, com efervescência, em ácidos minerais diluídos e ácido acético glacial.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon bismuto **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon carbonato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Agitar 5 g da amostra com 10 mL de água. Adicionar 20 mL de ácido nítrico e aquecer até dissolução. Resfriar e diluir para 100 mL com água. A preparação obtida é incolor **(5.2.12)** e menos opalescente que a *Suspensão de referência II* **(5.2.25)**.

Cobre. A 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 2 mL de amônia, diluir para 50 mL com água e filtrar. A 10 mL do filtrado, adicionar 1 mL de solução de dietilditiocarbamato de sódio a 0,1% (p/v). A coloração da preparação não é mais intensa que a de uma solução referência preparada em paralelo, nas mesmas condições, utilizando mistura de 0,25 mL de *Solução padrão de cobre (10 ppm Cu)* e água suficiente para 10 mL, no lugar do filtrado. No máximo 0,005% (50 ppm).

Metais alcalinos e alcalinos terrosos. A 1 g da amostra adicionar 10 mL de água e 10 mL de ácido acético SR. Aquecer à ebulição por dois minutos, resfriar e filtrar. Lavar o resíduo com 20 mL água destilada. Adicionar ao filtrado 2 mL de ácido clorídrico SR e 20 mL de água. Aquecer à ebulição e passar sulfeto de hidrogênio na solução, até que todo o bismuto seja precipitado. Filtrar, lavar o resíduo com água, evaporar em banho-maria até secura e adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico. Incinerar cuidadosamente e deixar resfriar. A massa de resíduo é de, no máximo, 10 mg (1,0%).

Nitratos. Transferir 0,25 g da amostra para erlenmeyer de 125 mL, adicionar 20 mL de água destilada, 0,05 mL de índigo carmim SV e, cuidadosamente, 30 mL de ácido sulfúrico. Titular imediatamente com índigo carmim SV, até viragem para coloração azul estável. O volume de índigo carmim SV gasto é de, no máximo, o volume equivalente a 1 mg de NO_3 (0,4%).

Prata. A 2 g da amostra adicionar 1 mL de água e 4 mL de ácido nítrico. Aquecer, cuidadosamente, até dissolução, resfriar e diluir para 11 mL com água. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico *M*, homogeneizar e deixar em repouso por cinco minutos ao abrigo da luz. Qualquer opalescência desenvolvida não é mais intensa do que a de um padrão, preparado pela mistura de 10 mL de solução

padrão de prata (5 ppm Ag), 1 mL de ácido nítrico e 2 mL de ácido clorídrico *M*. No máximo 0,0025% (25 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Transferir 0,6 g da amostra para balão de destilação. Adicionar 5 mL de água, 7 mL de ácido sulfúrico e resfriar. Adicionar 5 g de mistura redutora e 10 mL de ácido clorídrico. Aquecer, gradualmente, até ebulição, durante 15 a 30 minutos, e continuar aquecendo, de modo que a destilação prossiga regularmente até o volume do balão se reduzir à metade ou até que o condensador se encha de vapor por cinco minutos. A destilação deve ser interrompida antes da formação de vapores de trióxido de enxofre. Coletar o destilado em um tubo contendo 15 mL de água resfriada em banho de gelo. Lavar o condensador com água e diluir o destilado a 25 mL com mesmo solvente e prosseguir conforme descrito em *Método visual*. Preparar a solução referência utilizando uma mistura de 3 mL de *Solução padrão de arsênio (1 ppm As)* e 22 mL de água. No máximo 0,0005% (5 ppm).

Chumbo. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método II*. Dissolver 12,5 g da amostra em 75 mL de uma mistura de volumes iguais de água e ácido nítrico isento de chumbo. Aquecer à ebulição por um minuto, resfriar e diluir para 100 mL com água. Para o preparo das soluções de referência de chumbo, utilizar quantidades apropriadas de solução padrão de chumbo e de ácido nítrico a 37% (v/v) isento de chumbo. Medir as absorvâncias das soluções em 283,3 nm, utilizando lâmpada de catodo-oco como fonte de radiação e chama ar-acetileno. No máximo 0,002% (20 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 0,7 g da amostra, dissolvida com 8 mL de ácido nítrico. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar com água e homogeneizar. No máximo 0,05% (500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa, a 105 ºC. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,25 g da amostra em 2 mL de ácido nítrico e diluir para 100 mL com água. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para *Bismuto*. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 12,749 mg de $(BiO)_2CO_3$, correspondendo a 10,449 mg de bismuto.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido.

CARBONATO DE CÁLCIO
Calcii carbonas

$CaCO_3$; 100,09
carbonato de cálcio; 01748
Sal de cálcio do ácido carbônico (1:1)
[*471-34-1*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 100,5% de $CaCO_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, microcristalino, branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Pouco solúvel em água, quando na presença de sais amoniacais ou de dióxido de carbono. Praticamente insolúvel em álcool etílico. Dissolve com efervescência em ácido acético *M*, ácido clorídrico 3 *M* e ácido nítrico 2 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Introduzir, em tubo de ensaio, cerca de 0,1 g da amostra e suspender com 2 mL de água. Em seguida, adicionar 3 mL de ácido acético 2 *M*, fechar o tubo imediatamente com uma rolha previamente conectada a um tubo de vidro em "U". A mistura efervesce. Na outra extremidade do tubo em "U", conectar um segundo tubo de ensaio, contendo hidróxido de bário 0,1 *M*. Aquecer brandamente o tubo que contém a amostra. Forma-se, no segundo tubo, um precipitado que se dissolve em ácido clorídrico 6 *M*.

B. Satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias insolúveis em ácido. Pesar 5 g de amostra e gotejar ácido clorídrico, com agitação, até cessar a efervescência. Em seguida, transferir para balão de 200 mL e completar o volume com água. Filtrar em papel de filtro adequado. Lavar o resíduo até que a última lavagem não apresente reação para cloreto **(5.3.1.1)**. Incinerar e resfriar em dessecador. O peso do resíduo é de, no máximo, 10 mg (0,2%).

Magnésio e metais alcalinos. Misturar 1 g da amostra com 35 mL de água destilada. Adicionar, cuidadosamente, 3 mL de ácido clorídrico e ebulir a solução por um minuto. Rapidamente, adicionar 40 mL de ácido oxálico SR. Agitar vigorosamente até ocorrer precipitação. Aquecer, adicionar imediatamente duas gotas de vermelho de metila SI e acrescentar hidróxido de amônio 6 *M* até a mistura ficar alcalina. Resfriar à temperatura ambiente e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e deixar em repouso por quatro horas. Filtrar em papel de filtro adequado. Colocar 50 mL do filtrado em uma cápsula de porcelana, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico e reduzir o volume em banho-maria até pequeno volume. Aquecer em chapa elétrica até decomposição e volatilização dos sais de amônio. Incinerar o resíduo a 600 ºC, até peso constante. O peso do resíduo é de, no máximo, 5 mg (1%).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar *Método I*. Dissolver 1 g da amostra em 80 mL de ácido acético diluído. Após cessar a efervescência, ferver por dois minutos, arrefecer e completar o volume para 100 mL com ácido acético diluído. Filtrar, se necessário, em filtro de vidro sinterizado. No máximo 0,0004% (4 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Pesar 1 g da amostra, adicionar 10 mL de água destilada e, cuidadosamente, adicionar 10 mL de ácido nítrico 2 *M*, agitando até a dissolução. No máximo 0,035% (350 ppm).

Bário. Pesar, com exatidão, cerca de 2,5 g da amostra, transferir quantitativamente para béquer de forma alta, adicionar ácido clorídrico 3 *M* até cessar a efervescência e aquecer até ebulição, para eliminar o gás carbônico dissolvido. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Transferir, para tubo de ensaio, 5 mL da solução da amostra e adicionar 5 mL de sulfato de cálcio SR. Após 15 minutos, a preparação não é mais opalescente que 5 mL da solução da amostra com 5 mL de água.

Ferro. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1),** *Método I*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e transferir para um béquer de forma alta. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico 3 *M* e aquecer até a ebulição para eliminar o gás carbônico. Transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Sulfato (5.3.2.2). Utilizar 5 mL da solução da amostra obtida no teste de bário. No máximo 0,25% (2500 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. Utilizar 10 mL da solução da amostra obtida no teste de bário. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação. (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 200 ºC, por quatro horas. No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra, previamente dessecada, e transferir para um erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 50 mL de água e 2 mL de ácido clorídrico diluído, cobrir com vidro de relógio e agitar até a dissolução do carbonato de cálcio. Calcular o ponto de equivalência teórico e titular com edetato dissódico 0,05 *M* SV, até aproximadamente, 2 mL antes deste volume. Adicionar 8 mL de hidróxido de sódio SR e 150 mg do indicador azul de hidroxinaftol. Continuar a titulação com edetato dissódico 0,05 *M* SV até cor azul. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 5,004 mg de $CaCO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido, suplemento nutricional, quelante de fósforo.

CARBONATO DE LÍTIO
Lithium carbonas

Li_2CO_3; 73,89
carbonato de lítio, 01749
[*554-13-2*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 100,5% de Li_2CO_3.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Quando umedecido com ácido clorídrico, confere coloração vermelha à chama não luminosa.

B. Dissolver 0,2 g em 1 mL de ácido clorídrico. Evaporar até secura em banho-maria. O resíduo se dissolve em 3 mL de álcool etílico.

C. Satisfaz às reações do íon carbonato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Suspender 10 g da amostra em 30 mL de água e dissolver pela adição de 22 mL de ácido nítrico. Neutralizar com solução de hidróxido de sódio SR e diluir com água para 100 mL. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Cloreto (5.3.2.1). Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*, utilizando 5,0 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Sulfato (5.3.2.2). Dispersar 1,25 g em 5 mL de água e dissolver pela adição de ácido clorídrico 70% (p/v). Ferver por dois minutos. Esfriar e adicionar solução de hidróxido de sódio SR até neutralização. Diluir para 25 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). A 1,5 g de amostra, adicionar ácido sulfúrico 3,5 *M* até cessar a efervescência e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para arsênio*. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Utilizar 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cálcio*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito no *Método II*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar 5 mL da solução obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para ferro*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Magnésio (5.3.2.8). Diluir 1 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 10 mL com água. Utilizar 6,7 mL dessa preparação e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para magnésio*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Potássio. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico a 70% (p/v) e diluir para 50 mL com água. Utilizar como referência, solução de cloreto de potássio contendo 0,5 mg de potássio por mL. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Medir a intensidade de emissão em 766,5 nm. No máximo 0,03% (300 ppm).

Sódio. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico a 25% (p/v) e diluir para 50 mL com água. Utilizar como referência, solução de cloreto de sódio contendo 0,3 mg de sódio por mL. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Medir a intensidade de emissão em 589 nm. No máximo 0,03% (300 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 200 ºC por quatro horas. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,5 g da amostra em 25 mL de ácido clorídrico *M* SV. Titular com solução de hidróxido de sódio *M* SV utilizando alaranjado de metila SI como indicador. Realizar ensaio em branco e proceder as correções necessárias. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV equivale a 36,945 mg de Li_2CO_3.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CARBONATO DE MAGNÉSIO

Magnesii carbonas

$MgCO_3$; 84,31
carbonato de magnésio; 01750
Sal de magnésio do ácido carbônico (1:1)
[*546-93-0*]

$MgCO_3.xH_2O$
carbonato de magnésio hidratado; 11383
Sal de magnésio do ácido carbônico hidratado
[*23389-33-5*]

O carbonato de magnésio é uma mistura de carbonato de magnésio hidratado e carbonato de magnésio hidratado básico. Deve conter, no mínimo, 40,0% e, no máximo, 43,5% de MgO.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Apresenta-se sob duas variedades: leve e pesado. Carbonato de magnésio leve: massa branca, leve, friável ou pó branco, finíssimo, leve. Carbonato de magnésio pesado: pó granuloso, branco. Ambos, quando agitados com água, tornam-na levemente alcalina ao papel de tornassol.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e álcool etílico; dissolve-se a frio, em quantidade apreciável, na água saturada de dióxido de carbono. Dissolve-se com efervescência em ácidos diluídos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Quando tratado com ácidos minerais diluídos produz efervescência.

B. A solução obtida no teste **A.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon magnésio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Arsênio (5.3.2.5). A 1 g de amostra, adicionar 10 mL de água e 5 mL de ácido clorídrico bromado SR, eliminar o excesso de bromo com algumas gotas de cloreto de estanho (II) SR, e prosseguir como descrito no *Ensaio limite de arsênio*. Utilizar *Método I*. No máximo 0,0005% (5ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra e adicionar 22 mL de água e 3 mL de ácido sulfúrico, cautelosamente. Adicionar 50 mL de álcool etílico e deixar a mistura em repouso, no mínimo, durante 12 horas. Se houver separação de cristais de sulfato de magnésio, aquecer a mistura a cerca de 50 ºC para dissolvê-los. Filtrar em de cadinho de Gooch revestido de amianto e lavado previamente com ácido sulfúrico *M*, água e álcool etílico, calcinado e tarado. Lavar o cadinho de Gooch várias vezes com mistura de dois volumes de álcool etílico e um volume de ácido sulfúrico *M*. Secá-lo ao vermelho vivo, resfriar e pesar rapidamente. O peso do sulfato de cálcio, assim obtido, multiplicado por 0,4119, resulta no peso de CaO na amostra. A amostra deve conter, no máximo, o equivalente a 0,7% de CaO.

Ferro (5.3.2.4). Pesar 2 g de amostra e dissolver em 15 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Quando cessar a efervescência, completar o volume para 20 mL com água. Utilizar 4 mL no *Ensaio limite de ferro*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar 8 mL da solução preparada no *Ensaio limite de ferro* e neutralizar com solução concentrada de amônia. Adicionar 2 mL de ácido acético SR e prosseguir como descrito no *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo 0,0025% (25 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Utilizar 8 mL da solução preparada no *Ensaio limite de ferro*. No máximo 0,12%, (1200 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Pesar, com exatidão, cerca de 2,0 g de amostra, adicionar 15 mL de ácido nítrico 2 *M*, 25 mL de água e 1 mL de nitrato de prata 0,25 *M*. Completar o volume para 50 mL com água. Se produzir opalescência, esta não deverá ser mais intensa do que a produzida por 0,1 mg de cloreto em igual volume de líquido, empregando-se os mesmos reagentes. No máximo 0,02% (200 ppm).

Substâncias insolúveis em ácido clorídrico. Misturar 5 g da amostra com 75 mL de água e adicionar, sob agitação, ácido clorídrico, em pequenas porções, até a completa dissolução. Ferver durante cinco minutos. Recolher o resíduo insolúvel em um filtro e lavar até que as águas de lavagem não mais satisfaçam à reação de cloreto. Incinerar, deixar esfriar e pesar. O resíduo deverá pesar, no máximo, 0,0025 g (0,05%).

Substâncias solúveis em água. A 50 mL de água recentemente fervida, adicionar 1 g de amostra e levar à ebulição durante cinco minutos. Filtrar, evaporar o filtrado até a secura e dessecar o resíduo a 110 ºC, durante uma hora. O resíduo deverá pesar, no máximo, 0,01 g (1%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra, adicionar 50 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M* SV, 0,5 mL de alaranjado de metila SI e dosear o excesso de ácido com hidróxido de sódio *M* SV. Realizar o ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Subtrair do volume de ácido 0,5 *M* SV consumido o correspondente ao CaO determinado em *Ensaios de pureza*. A diferença será o volume de ácido sulfúrico 0,5 *M* SV que equivale ao carbonato de magnésio. Cada mL de ácido sulfúrico 0,5 M SV equivale a 0,02015 g de MgO e a 0,02804 g de CaO.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido e laxativo.

CARBONATO DE POTÁSSIO

Kalii carbonas

K_2CO_3; 138,21
carbonato de potássio; 01751
Sal de potássio do ácido carbônico (2:1)
[*584-08-7*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 100,5% de K_2CO_3, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó granuloso, branco e higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 0,1% (p/v) da amostra satisfaz às reações do íon carbonato **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 0,1% (p/v) da amostra satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Matéria insolúvel. Dissolver 10 g da amostra em 100 mL de água utilizando um béquer. Aquecer o béquer coberto, até ebulição, em banho-maria, por uma hora. Filtrar a solução em funil tarado de média porosidade (10 µm a 15 µm). Lavar com água quente. Secar a 105 ºC, resfriar em dessecador e pesar. No máximo 0,01% (100 ppm).

Cálcio e magnésio. A 20 mL da solução da amostra a 10% (p/v), adicionar ácido clorídrico até reação ácida ao papel de tornassol, acrescentar 5 mL de oxalato de amônio SR, 2 mL de fosfato de sódio dibásico heptaidratado SR e 10 mL de hidróxido de amônio. Deixar em repouso, em lugar fresco, durante 24 horas. Se ocorrer formação de precipitado, filtrar e lavar com hidróxido de amônio a 2% (v/v). Dessecar e calcinar até peso constante. A massa do resíduo é de, no máximo, 0,4 mg. No máximo 0,02%.

Cianeto. A 15 mL da solução da amostra a 10% (p/v), adicionar 0,5 mL de sulfato ferroso SR e 0,5 mL de cloreto férrico SR. Adicionar ácido clorídrico SR até reação fortemente ácida. Não se desenvolve coloração azul.

Cloretos (5.3.2.1). Acidificar 30 mL da solução da amostra a 10% (p/v) com ácido nítrico SR até reação ácida ao papel de tornassol. Adicionar 1 mL de nitrato de prata SR, completar o volume para 50 mL com água e homogeneizar. Se produzir opalescência, não deverá ser mais intensa que aquela produzida por 0,35 mg do íon cloreto tratado nas mesmas condições. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Acidificar 20 mL da solução da amostra a 10% (p/v) com ácido clorídrico SR até reação ácida ao papel de tornassol. Adicionar 1 mL de cloreto de bário SR, completar o volume para 50 mL com água e aquecer em banho-maria durante 15 minutos. Se produzir opalescência, essa não deverá ser mais intensa que aquela produzida por 0,2 mg do íon sulfato, tratado nas mesmas condições. No máximo 0,01% (100 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 4 g da amostra em 10 mL de água, adicionar 15 mL de ácido clorídrico SR e aquecer até ebulição. Adicionar uma gota de fenolftaleína SI e neutralizar com hidróxido de sódio *M* até coloração levemente rosa. Resfriar e diluir com água para 25 mL. Prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,0005% (5 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 10 g da amostra em 25 mL de água, adicionar, lentamente, 14 mL de ácido clorídrico. Quando cessar a efervescência, aquecer à ebulição por alguns minutos. Resfriar e diluir para 50 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Método I* utilizando 5 mL da solução obtida. Utilizar 0,1 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar 10 mL de solução da amostra a 10% (p/v) e adicionar 5 mL de ácido clorídrico SR. Preparar o padrão com *Solução padrão de arsênio (1 ppm As)* e prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,3 g da amostra. Dessecar em estufa a 180 ºC, por quatro horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir, quantitativamente, cerca de 1,5 g da amostra previamente dessecada para erlenmeyer. Adicionar 150 mL de água e quatro gotas de alaranjado de metila SI. Titular com ácido clorídrico *M* SV. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV equivale a 69,105 mg de K_2CO_3.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Alcalinizante e diurético.

CARBONATO DE SÓDIO

Natrii carbonas

Na_2CO_3; 105,99
carbonato de sódio; 01752
Sal de sódio do ácido carbônico (2:1)
[*497-19-8*]

$Na_2CO_3.H_2O$; 124,00
carbonato de sódio monoidratado; 11399
Sal de sódio do ácido carbônico hidratado (2:1:1)
[*5968-11-6*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 100,5% de Na_2CO_3, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais incolores ou pó branco. No ar úmido e em lugar fresco, absorve água; a 100 ºC, torna-se anidro.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em água em ebulição. Insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon carbonato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Alcalinidade. A solução aquosa da amostra é fortemente alcalina ao papel de tornassol.

Cálcio e Magnésio. Determinar em 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Adicionar ácido clorídrico até reação ácida ao papel de tornassol. Adicionar 5 mL de oxalato de amônio 0,25 *M*, 2 mL de fosfato de sódio dibásico heptaidratado 0,3 *M* e 10 mL de amônia. Deixar em repouso, em lugar fresco, durante 24 horas. Se houver precipitação, filtrar em papel de filtro adequado, lavar com solução de amônia a 2% (p/v), dessecar e calcinar até peso constante. O resíduo deverá pesar, no máximo, 0,4 mg (0,02%).

Cianeto. Determinar em 15 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Adicionar 0,5 mL de sulfato ferroso 0,5 *M* e 0,5 mL de cloreto férrico 0,3 *M*. Adicionar ácido clorídrico 3 *M* até reação fortemente ácida. O líquido não deve obter coloração azul.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Adicionar ácido nítrico *M* até reação ácida ao papel de tornassol. Adicionar 1 mL de nitrato de prata 0,25 *M*, completar o volume para 50 mL com água e homogeneizar. Se for produzida opalescência, esta não

deverá ser mais intensa da que for produzida por 0,1 mg de íon cloreto em igual volume de líquido, empregando-se os mesmos reagentes. No máximo 0,01% (100 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Determinar em 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Adicionar ácido acético até reação ácida ao papel de tornassol. Se produzir coloração rosa ou vermelha, esta não deve ser mais intensa do que a obtida com 0,02 mg de íon férrico em igual volume de líquido, empregando-se os mesmos reagentes. No máximo 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Adicionar ácido acético até reação ácida ao papel de tornassol. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Adicionar ácido clorídrico 3 *M* até reação ácida ao papel de tornassol. Adicionar 1 mL de cloreto de bário 0,5 *M*, completar o volume com água para 50 mL e homogeneizar. Aquecer em banho-maria durante 10 minutos. Se for produzida opalescência, esta não deverá ser mais intensa da que for produzida por 0,8 mg de íon sulfato em igual volume de líquido, empregando-se os mesmos reagentes. No máximo 0,04% (400 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 0,5% para a substância anidra e entre 12% e 15% para a substância hidratada.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 1 g da amostra em 25 mL de água. Titular com ácido clorídrico *M*, utilizando 0,2 mL de alaranjado de metila SI. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV equivale a 52,99 mg de Na_2CO_3 ou a 62,0 mg de $Na_2CO_3.H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico (agente alcalinizante).

CARBOPLATINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_{12}N_2O_4Pt$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetona e água (80:20), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução amostra: solução injetável, se necessário, diluída em água de forma a obter solução a 10 mg/mL de carboplatina.

Solução padrão: solução de carboplatina SQR a 10 mg/mL em água.

Nota: *utilizar a Solução amostra e a Solução padrão em até duas horas.*

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar durante duas horas. Nebulizar com mistura de 5,6 g de cloreto de estanho (II) em 10 mL de ácido clorídrico (a dissolução pode não ser completa; se necessário, filtrar) e 90 mL de água contendo 1 g de iodeto de potássio, preparada imediatamente antes do uso. Aquecer a placa a 100 ºC por 10 minutos. A mancha obtida no cromatograma com a *Solução amostra* corresponde em tamanho, cor e posição àquela obtida com a *Solução padrão*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal obtido com a *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm), mantida à temperatura ambiente e fluxo de *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Solução (1): dissolver 8,5 g de sulfato de tetrabutilamônio em 80 mL de água, adicionar 3,4 mL de ácido fosfórico e ajustar o pH para 7,55 com hidróxido de sódio.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e *Solução (1)* (88:10:2). Desgaseificar e filtrar.

Solução amostra: diluir a solução injetável em água de modo a obter solução de carboplatina a 1 mg/mL. Utilizar esta solução em até duas horas.

Solução padrão: solução de ácido ciclobutano-1,1- dicarboxílico a 0,01 mg/mL em água.

Solução de resolução: mistura de *Solução amostra* e *Solução padrão* (1:1).

A resolução entre os picos da carboplatina e do ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico é de, no mínimo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico deácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico entre as replicatas é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar separadamente, 100 µL da *Solução amostra*, da *Solução padrão* e da *Solução de resolução.* Registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes e meia o tempo de retenção do pico correspondente à carboplatina. A área sob o pico correspondente ao ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico obtida no cromatograma da *Solução amostra* não é maior que a área sob o pico obtida no cromatograma da *Solução padrão* (1,0%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,54 UE/mg de carboplatina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo aminopropilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar mistura de acetonitrila e água (87:13). Desgaseificar e filtrar.

Solução amostra: solução injetável diluída em água de modo a obter solução a 1 mg/mL de carboplatina.

Solução padrão: solução de carboplatina SQR a 1 mg/mL em água.

Nota: *utilizar a Solução amostra e a Solução padrão em até duas horas.*

O fator de retenção é de, no mínimo, 4,0 para o pico principal, o número de pratos teóricos é de, no mínimo, 5000 e o fator de cauda é de, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de carboplatina entre as replicatas é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_6H_{12}N_2O_4Pt$ na solução injetável a partir das respostas obtidas para as *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e isento do contato com metais.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CARRAGENINA

carragenina; 01798
Carragenina
[*9000-07-1*]

Carragenina é o coloide hidrófilo obtido da extração com água ou com solução aquosa alcalina de alguns membros da classe *Rhodophyceae* (algas vermelhas), utilizada como agente geleificante, emulsionante, estabilizante, suspensor e de aumento de viscosidade. É uma mistura de polissacarídeos sulfatados, constituída normalmente de ésteres de sulfato de potássio, sódio, cálcio, magnésio e amônio, e copolímeros de galactose e 3,6-anidrogalactose. As famílias estruturais são identificadas pela posição do grupo sulfato e a presença ou não de anidrogalactose. Essas hexoses estão alternadas nas ligações α-1,3 e β-1,4 no polímero. Os copolímeros prevalentes no coloide são designados carragenina do tipo *capa*, *iota* e *lambda*. A família *capa* consiste em *capa* e *iota. Capa*-carragenina é geralmente D-galactose-4-sulfato e 3,6-anidro-Dgalactose alternados e *iota*-carragenina é similar exceto que a 3,6-anidrogalactose é sulfatada no carbono 2. Entre *capa*-carragenina e *iota*-carragenina existem diferentes composições intermediárias, dependentes do grau de sulfatação no carbono 2. Devido à estrutura terciária helicoidal, que permite geleificação, a família *capa* é a de maior importância comercial. Na *lambda*-carragenina as unidades monoméricas são geralmente D-galactose-2- sulfato (ligação 1,3) e D-galactose-2,6-dissulfato (ligação 1,4). Esta carragenina não é geleificante. O conteúdo de éster sulfato na carragenina é de 18% a 40%.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou amarelado, quase inodoro.

Solubilidade. Solúvel em água quente (80 ºC). Dispersa mais facilmente se umedecida primeiramente em álcool etílico, glicerol e xarope.

Constantes físico-químicas.

Viscosidade **(5.2.7)**: no mínimo 5 cP a 75 ºC. Transferir 7,5 g da amostra para um béquer de 600 mL previamente pesado, adicionar 450 mL de água e dispersar sob agitação durante 15 minutos. Adicionar água até 500 g de peso e aquecer em banho-maria, com agitação contínua, até que a temperatura de 80 ºC seja alcançada. Adicionar água para ajustar a perda por evaporação, resfriando até intervalo de 76 ºC a 77 ºC e manter em banho, à temperatura constante de 75 ºC. Utilizar um viscosímetro rotacional adequado e adaptar um corpo rotatório de 1,88 cm de diâmetro e 6,51 cm de altura, com imersão de profundidade de 8,10 cm. Deixar o corpo rotatório girar na amostra a 30 rpm por seis rotações e efetuar leitura na escala. Converter a leitura para centipoises, por multiplicação pela constante do corpo rotatório e a velocidade empregada.

IDENTIFICAÇÃO

A. Preparar uma dispersão uniforme a 2% (p/v) da amostra em água e aquecer em banho-maria a 80 ºC (*Preparação A*). Após resfriamento a dispersão torna-se mais viscosa e pode formar um gel.

B. A 10 mL da *Preparação A*, obtida no teste **A.** de *Identificação*, ainda quente, adicionar quatro gotas de cloreto de potássio a 10% (p/v), homogeneizar e esfriar. Uma textura frágil do gel indica predominância da carragenina do tipo *capa*; um gel elástico indica predominância de carragenina do tipo *iota*. Se a solução não formar gel, a carragenina predominante é do tipo *lambda*.

C. Diluir uma porção da *Preparação A*, obtida no teste **A.** de *Identificação*, em quatro partes de água e adicionar duas a três gotas de cloreto de metiltionínio a 0,05% (p/v) em álcool etílico. Forma-se precipitado fibroso de cor azul.

D. Obter o espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** das frações geleificantes e não-geleificantes pelo procedimento descrito a seguir. Dispersar 2 g da amostra em 200 mL de cloreto de potássio a 2,5% (p/v) e agitar durante uma hora. Deixar em repouso durante 18 horas, agitar novamente durante uma hora e transferir para um tubo de centrífuga. Se a transferência não puder ser realizada porque a dispersão é muito viscosa, diluir com 200 mL de cloreto de potássio a 2,5% (p/v). Centrifugar a aproximadamente 1000 *g* durante 15 minutos. Remover o líquido sobrenadante límpido, ressuspendendo o resíduo em 200 mL de cloreto de potássio a 2,5% (p/v) e centrifugar novamente. Coagular os sobrenadantes combinados, por adição de dois volumes de álcool etílico 90% (v/v). Recuperar o coágulo e o sedimento. Lavar o coágulo com 250 mL de álcool etílico 90% (v/v). Retirar o excesso de líquido do coágulo por pressão e secar a 60 ºC durante duas horas. O material assim obtido é a fração não-geleificante, carragenina do tipo *lambda*. Dispersar o sedimento em 250 mL de água fria, aquecer a 90 ºC durante 10 minutos e resfriar até 60 ºC. Coagular a mistura, com dois volumes de álcool etílico a 90% (v/v). Recuperar, lavar e secar o coágulo como descrito anteriormente. O material assim obtido é a fração geleificante, carragenina do tipo *capa* e *iota*. Preparar, para cada fração, filmes de 5 mm de espessura (quando seca) em uma superfície não aderente uniforme e obter os espectros de absorção no infravermelho de cada filme. Carragenina apresenta larga banda de absorção, típica dos polissacarídeos, na região de 1000 cm^{-1} a 1100 cm^{-1}. Os máximos de absorção são de 1065 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} para a fração geleificante e não-geleificante, respectivamente. Outras bandas de absorção características e suas intensidades relativas à absorvância em 1050 cm^{-1} são mostradas na tabela a seguir.

Comprimento de onda (cm^{-1})	***Fração molecular***	***Absorvâncias relativas a 1050 cm^{-1}***		
		Capa	***Iota***	***Lambda***
1220 a 1260	Éster sulfato	0,7 a 1,2	1,2 a 1,6	1,4 a 2,0
928 a 933	3,6-Anidrogalactose	0,3 a 0,6	0,2 a 0,4	0 a 0,2
840 a 850	Galactose-4-sulfato	0,3 a 0,5	0,2 a 0,4	---
825 a 830	Galactose-2-sulfato	---	---	0,2 a 0,4
810 a 820	Galactose-6-sulfato	---	---	0,1 a 0,3
800 a 805	3,6-Anidrogalactose-2-sulfato	0 a 0,2	0,2 a 0,4	---

ENSAIOS DE PUREZA

Matéria ácida insolúvel.

Transferir 2 g da amostra, pesados com exatidão, para um béquer de 250 mL contendo 150 mL de água e 1,5 mL de ácido sulfúrico. Tampar com vidro de relógio e aquecer em banho de vapor durante seis horas. Friccionar frequentemente as paredes do béquer com bastão de vidro com borracha na extremidade, repondo alguma água perdida por evaporação. Adicionar 500 mg, pesados com exatidão, de um agente auxiliar de filtração. Filtrar a preparação em um funil com placa filtrante contendo uma camada de fibra de vidro de 2,4 cm, previamente dessecado e pesado. Lavar o resíduo várias vezes com água quente. Secar a 105 ºC durante três horas, esfriar em dessecador e pesar. A diferença entre o peso final e a soma dos pesos do funil, da fibra de vidro e do agente auxiliar de filtração é o peso da matéria ácida insolúvel. No máximo 2%.

Arsênio (5.3.2.5). No máximo 0,0003% (3 ppm).

Chumbo (5.3.2.12). No máximo 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,004% (40 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Secar sob pressão de, no máximo, 10 mm Hg a 70 ºC, durante 18 horas. No máximo 12,5%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 35%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes herméticos, preferencialmente em local fresco.

ROTULAGEM

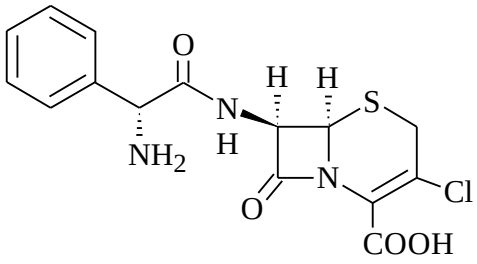
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Excipiente.

CEFACLOR

Cefaclorum



$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$; 367,80
cefaclor; 01824
Ácido (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]- 3-cloro-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2- carboxílico
[*53994-73-3*]

$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S.H_2O$; 385,82
cefaclor monoidratado; 09368
Ácido (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]- 3-cloro-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2- carboxílico hidratado (1:1)
[*70356-03-5*]

Contém, no mínimo, 950 µg e, no máximo, 1020 µg de cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +101 a +111, em relação à substância anidra. Determinar em solução da amostra a 1% (p/v) em ácido clorídrico a 1% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cefaclor SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal obtido com a *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,0 a 4,5. Determinar em suspensão aquosa a 2,5% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 250

mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm ou 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Diluente: dissolver 2,4 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para 2,5 com ácido fosfórico.

Eluente A: dissolver 6,9 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para 4,0 com ácido fosfórico.

Eluente B: mistura do *Eluente A* e acetonitrila (55:45).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 30	95 → 75	5 → 25	gradiente linear
30 – 45	75 → 0	25 → 100	gradiente linear
45 – 55	0	100	isocrática
55 – 60	0 → 95	100 → 5	gradiente linear
60 – 70	95	5	isocrática

Solução amostra: transferir, quantitativamente, 50 mg da amostra para balão volumétrico de 10 mL, adicionar volume de *Diluente* suficiente para solubilizar e deixar em banho de ultrassom, se necessário. Completar o volume com *Diluente*, homogeneizar e filtrar. Usar essa solução em até três horas, se estocada à temperatura ambiente, ou em até 20 horas, se estocada sob refrigeração.

Solução padrão: dissolver quantidade suficiente de cefaclor SQR em *Diluente*, de modo a obter solução a 50 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver quantidade de delta-3-cefaclor SQR em *Solução padrão* de modo a obter solução a 50 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. O tempo de retenção para o pico do cefaclor deve estar compreendido entre 23 minutos e 29 minutos. O fator de cauda para o pico do cefaclor é de, no máximo, 1,2. A resolução entre delta-3-cefaclor e cefaclor é de, no mínimo, 2,0. Injetar o *Diluente*. Desconsiderar qualquer pico referente ao *Diluente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cada substância relacionada segundo a expressão:

$$0{,}01 \; x \; C \; x \; P \; (r_i / r_p)$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de cefaclor na *Solução padrão*;
P = potência, em µg/mg, de cefaclor SQR;
r_i = área sob o pico de cada substância relacionada no cromatograma obtido com a *Solução amostra;*
r_p = área sob o pico relativo ao cefaclor no cromatograma obtido com a *Solução padrão*.

No máximo 1,0% para qualquer substância relacionada e no máximo 3,0% para a soma de todas as substâncias relacionadas. Desconsiderar qualquer pico com resultado inferior a 0,1%.

Água (5.2.20.1). 3,0% a 6,5%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 265 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 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio em uma mistura de 780 mL de água e 10 mL de trietilamina. Ajustar o pH para 2,5 ± 0,1 com ácido fosfórico. Adicionar 220 mL de álcool metílico e agitar.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 15 mg da amostra, para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Utilizar essa solução em até oito horas, se estocada à temperatura ambiente, ou em até 20 horas, se estocada sob refrigeração.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 15 mg de cefaclor SQR para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Utilizar essa solução em até 8 horas, se estocada à temperatura ambiente, ou em até 20 horas, se estocada sob refrigeração.

Solução de resolução: preparar solução, em *Fase móvel*, contendo cerca de 0,3 mg/mL de cefaclor SQR e 0,3 mg/mL de delta-3-cefaclor SQR.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. O fator de cauda para o pico do cefaclor é de, no máximo, 1,5. A resolução entre cefaclor e delta-3-cefaclor é de, no mínimo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de cefaclor entre as replicatas é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$) por miligrama da amostra, a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CEFACLOR CÁPSULAS

Contém cefaclor monoidratado equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$).

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma obtido com a *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 264 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cefaclor SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* da monografia de *Cefaclor*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de cefaclor para balão volumétrico de 10 mL. Completar o volume com *Diluente*, homogeneizar e filtrar. Usar essa solução em até três horas, se estocada à temperatura ambiente, ou em até 20 horas, se estocada sob refrigeração.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. O tempo de retenção para o pico do cefaclor deve estar compreendido entre 23 minutos e 29 minutos. O fator de cauda para o pico do cefaclor é de, no máximo, 1,2. A resolução entre os picos de delta-3-cefaclor e cefaclor é de, no mínimo, 2,0. Injetar o *Diluente*. Desconsiderar qualquer pico referente ao *Diluente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cada substância relacionada utilizando a seguinte expressão:

$$0{,}01\ x\ C\ x\ P\ (r_i/r_p)$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de cefaclor na *Solução padrão*;
P = potência, em µg/mg, de cefaclor SQR;
r_i = área sob o pico de cada substância relacionada no cromatograma obtido com a *Solução teste*;
r_p = área sob o pico relativo ao cefaclor no cromatograma obtido com a *Solução padrão*.

No máximo 1,0% para qualquer substância relacionada e no máximo 3,0% para a soma de todas as substâncias relacionadas. . Desconsiderar qualquer pico com resultado inferior a 0,1%.

Água (5.2.20.1). No máximo 8,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 265 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: dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio em uma mistura de 780 mL de água e 10 mL de trietilamina e ajustar o pH para 2,5 ± 0,1 com ácido fosfórico. Adicionar 220 mL de álcool metílico e misturar.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 30 mg de cefaclor para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom até a dissolução. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cefaclor SQR em *Fase móvel* de modo a obter concentração final de 0,3 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$) nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFACLOR SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 80% e, no máximo, 120% da quantidade declarada de cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$). A suspensão oral pode conter agentes corantes, agentes suspensores, aromatizantes, tamponantes, adoçantes e conservantes em veículo aquoso.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 190 nm a 310 nm, de uma solução da amostra a 30 μg/mL, diluída em água e filtrada, há máximo de absorção em 264 nm.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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.

Diluente: dissolver 2,4 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para 2,5 com ácido fosfórico.

Eluente A: dissolver 6,9 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para 4,0 com ácido fosfórico.

Eluente B: preparar uma mistura de *Eluente A* e acetonitrila (55:45).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 30	95 → 75	5 → 25	gradiente linear
30 – 45	75 → 0	25 → 100	gradiente linear
45 – 55	0	100	isocrática
55 – 60	0 → 95	100 → 5	gradiente linear
60 – 70	95	5	isocrática

Solução amostra: diluir quantidade da amostra no *Diluente* de modo a obter uma solução com concentração de 5 mg/mL. Agitar e deixar em banho de ultrassom, se necessário. Filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cefaclor SQR em *Diluente* de modo a obter uma solução com concentração de 0,05 mg/mL.

Solução de resolução: dissolver quantidade de delta-3-cefaclor SQR, pesada com exatidão, na *Solução padrão* de modo a obter uma solução com concentração de 0,05 mg/mL.

Injetar 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos relativos ao delta 3-cefaclor e o cefaclor é, no mínimo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos.

A porcentagem máxima tolerada é de 1,0% para cada impureza individual e de, no máximo, 3,0% para a soma de todas as impurezas presentes. Desconsiderar picos relativos ao solvente ou com resultado inferior 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 265 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: dissolver 1 g de 1-pentanosulfonato de sódio em uma mistura de 780 mL de água com 10 mL de trietilamina e ajustar o pH para 2,5 ± 0,1 com ácido fosfórico. Adicionar 220 mL de álcool metílico e misturar.

Solução amostra: pesar quantidade da suspensão, equivalente a 75 mg de cefaclor, transferir para balão volumétrico de 250 mL. Agitar durante 30 minutos e completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo-se solução a 0,3 mg/mL. Filtrar em filtro quantitativo.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cefaclor SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução concentração final de 0,3 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

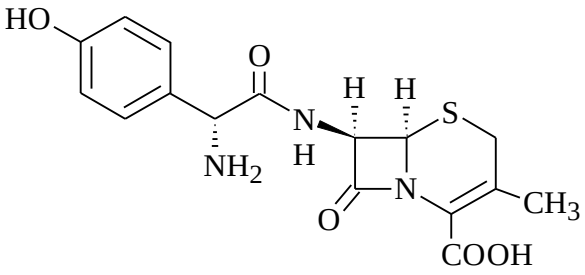
Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFADROXILA

Cefadroxilum



$C_{16}H_{17}N_3O_5S$; 363,39
cefadroxila; 01825
Ácido (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico
[*50370-12-2*]

$C_{16}H_{17}N_3O_5S.H_2O$; 381,40
cefadroxila monoidratada; 11384
Ácido (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico hidratado (1:1)
[*66592-87-8*]

A potência é de, no mínimo, 950 μg e, no máximo, 1050 μg de cefadroxila ($C_{16}H_{17}N_3O_5S$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +165 a +178, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 1% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A**. *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.** *ou os testes* **C.** *e* **D.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cefadroxila SQR, preparada de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 235 nm a 340 nm, de solução a 0,002% (p/v) em tampão citro-fosfato pH 6,0, há máximo de absorção em 264 nm, idêntico ao observado no espectro de cefadroxila SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, em *Substâncias relacionadas.* A mancha principal obtida com a *Solução (4)* corresponde em posição, cor e

intensidade àquela obtida com a *Solução (5)*. O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (4)* apresentar três manchas nitidamente separadas.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 6,0. Determinar em suspensão aquosa a 5% (p/v).

Absorção de luz. A absorção da solução a 0,02% (p/v) em tampão citro-fosfato pH 6,0, medida em 330 nm, é de, no máximo, 0,05 **(5.2.14)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila, álcool etílico, água e ácido fórmico (14:5:5:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL das *Soluções (1)*, *(2)* e *(3)* e 4 µL da *Solução (4)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Diluente: mistura de álcool etílico, água e ácido clorídrico 2,4 *M* (75:22:3).

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Diluente* de modo a obter solução a 25 mg/mL.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução (3): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico e de D-α-4-hidroxifenilglicina em *Diluente* de modo a obter solução a 0,25 mg/mL de cada substância.

Solução (4): misturar 1 mL da *Solução (1)* com 1 mL da *Solução (3).*

Solução (5): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cefadroxila SQR em *Diluente* de modo a obter solução a 12,5 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e nebulizar com solução de ninidrina a 3% (p/v) em metabissulfito de sódio a 4,55% (p/v). Deixar a placa secar ao ar. As manchas secundárias obtidas no cromatograma com a *Solução (1)*, correspondentes ao ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico ou à D-α-4- hidroxifenilglicina, se presentes, não é mais intensa que as manchas obtidas no cromatograma da *Solução (3)* (1%). Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, com exceção da mancha principal e das manchas correspondentes ao ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico ou à D-α-4- hidroxifenilglicina, não é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma da *Solução (2)* (1%). O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (4)* apresentar três manchas nitidamente separadas.

Limite de *N,N*-dimetilanilina (5.3.2.13). No máximo, 20 ppm**.**

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,2 g de amostra. Entre 4,0% e 6,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,5%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 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.

Tampão fosfato pH 5,0: fosfato de potássio monobásico 0,05 *M*, pH 5,0, ajustado com hidróxido de sódio 2 *M*.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 5,0* e acetonitrila (96:4).

Solução amostra: transferir 0,2 g da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 200 mL, com auxílio de 120 mL de *Tampão fosfato pH 5,0* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Utilizar a solução no mesmo dia.

Solução padrão: transferir o equivalente a 25 mg de cefadroxila SQR para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Tampão fosfato pH 5,0* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Utilizar a solução no mesmo dia.

O número de pratos teóricos deve ser de, no mínimo, 1800. O fator de cauda é de, no máximo, 2,2. O fator de retenção deve ser de 2 a 3,5. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de cefadroxila entre as replicatas deve ser de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da Solução *padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a potência, em µg/mg, de cefadroxila ($C_{16}H_{17}N_3O_5S$) na amostra a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: Staphylococcus aureus ATCC 6538 P.

Meios de cultura: solução fisiológica estéril para a padronização do inóculo, meio de cultura n° 2 para a camada base e meio de cultura n° 1 para a preparação do inóculo.

Soluções amostra: pesar, com exatidão, o equivalente a 50 mg da amostra e transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 60 mL de *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio 1%, estéril, pH 6,0).* Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, para obter concentrações de 40 µg/mL, 20 µg/mL e 10 µg/mL, utilizando *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio 1%, estéril, pH 6,0)* como solvente.

Soluções padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg de cefadroxila SQR e transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 50 mL com o auxílio de 30 mL de *(Solução 1) Tampão fosfato de potássio 1%, estéril, pH 6,0*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 20 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, para obter concentrações de 40 µg/mL, 20 µg/mL e 10 µg/mL, utilizando *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio 1%, estéril, pH 6,0)* como solvente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura n° 2 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Calcular a potência da amostra, em µg de cefadroxila por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CEFADROXILA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de cefadroxila ($C_{16}H_{17}N_3O_5S$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 20 mg de cefadroxila para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 60 mL de tampão citro-fosfato pH 6,0. Agitar por 10 minutos e completar o volume com o tampão. Homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Cefadroxila*.

B. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Utilizar quantidade de pó equivalente a 20 mg de cefadroxila, dissolver em 5 mL de mistura de álcool metílico e tampão citro-fosfato pH 7,0 (1:1), homogeneizar e filtrar.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (**5.1.4.1).** Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 263 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cefadroxila SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 7,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* da monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,2 g de cefadroxila para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 120 mL de *Tampão fosfato pH 5,0* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Utilizar a solução no mesmo dia.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefadroxila ($C_{16}H_{17}N_3O_5S$) nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cefadroxila.* Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,125 g de cefadroxila para balão volumétrico de 250 mL, com auxílio de 150 mL de *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0).* Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, para obter concentrações de 40 µg/mL, 20 µg/mL e 10 µg/mL, e, utilizando o mesmo solvente.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFADROXILA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de cefadroxila ($C_{16}H_{17}N_3O_5S$). Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 20 mg de cefadroxila para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 60 mL de tampão citro-fosfato pH 6,0. Agitar por 10 minutos e completar o volume com o tampão. Homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Cefadroxila*.

B. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade de pó equivalente a 20 mg de cefadroxila, dissolver em 5 mL de mistura de álcool metílico e tampão citrofosfato pH 7,0 (1:1) e filtrar.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 500 mL contendo 300 mL de *Tampão fosfato pH 5,0* (descrito no método **A.** de *Doseamento* na monografia de *Cefadroxila*) e deixar em banho de ultrassom por cinco minutos para a desintegração do comprimido. Agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com *Tampão fosfato pH 5,0* e homogeneizar. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL

Aparelhagem: pás, 50 rpm

Tempo: 30 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir em água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 263 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do

zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cefadroxila SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ se dissolve em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 8,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* na monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,2 g de cefadroxila para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 120 mL de *Tampão pH 5,0* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Utilizar a solução no mesmo dia.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções padrão* e *amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para as *Soluções padrão* e *amostra*.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* na monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,125 g de cefadroxila para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de *Tampão fosfato de potássio a 1% estéril, pH 6,0*. Deixar em ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir para obter concentrações de 10 µg/mL, 20 µg/mL e 40 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio a 1% estéril, pH 6,0* como diluente.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFADROXILA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$. O pó para suspensão oral é uma mistura de cefadroxila monoidratada com um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tampões, adoçantes e conservantes.

IDENTIFICAÇÃO

A. Reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir quantidade de suspensão oral equivalente a 50 mg de cefadroxila para balão volumétrico de 250 mL com o auxílio de 150 mL de tampão citro-fosfato pH 6,0. Agitar por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Cefadroxila*.

B. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Utilizar quantidade de suspensão oral equivalente a 0,1 g de cefadroxila, dissolver em 25 mL de mistura de álcool metílico e tampão citro-fosfato pH 7,0 (1:1) e filtrar.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida no método **A.** de *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 4,5 a 6,0. Determinar na suspensão reconstituída conforme indicado no rótulo.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó antes de reconstituir.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* da monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 0,25 g de cefadroxila para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de *Tampão fosfato pH 5,0* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar aproximadamente 25 mL dessa solução, em filtro de porosidade igual a 0,8 μm ou inferior, e utilizar o filtrado límpido como solução amostra. Utilizar a solução no mesmo dia.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefadroxila ($C_{16}H_{17}N_3O_5S$) na suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cefadroxila*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir volume de suspensão oral equivalente a 0,1 g de cefadroxila para balão volumétrico de 200 mL, com auxílio de 120 mL de *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)*. Agitar mecanicamente por 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, para obter concentrações de 40 μg/mL, 20 μg/mL e 10 μg/mL, e utilizando o mesmo solvente.

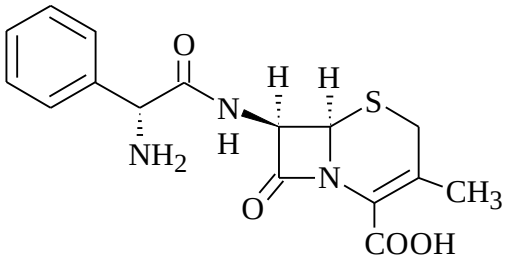
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFALEXINA
Cefalexinum



$C_{16}H_{17}N_3O_4S$; 347,39
cefalexina; 01826
Ácido (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico
[*15686-71-2*]

$C_{16}H_{17}N_3O_4S.H_2O$; 365,40
cefalexina monoidratada; 01827
Ácido (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetil]amino]- 3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico hidratado (1:1)
[*23325-78-2*]

Contém, no mínimo, 950 µg e, no máximo, 1030 µg de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool metílico e praticamente insolúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +149 a +158, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,5% (p/v), preparada em tampão biftalato pH 4,4.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cefalexina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra em água (1:50.000), há máximo e mínimo de absorção no mesmo comprimento de onda de uma solução de cefalexina SQR, preparada de maneira idêntica. A absortividade, calculada em relação à substância anidra, no comprimento de onda de absorção máxima (cerca de 262 nm) é de, no mínimo, 95% e, no máximo, 104% da obtida com cefalexina SQR, preparada de maneira idêntica. Considerar a potência declarada da cefalexina SQR nos cálculos.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,0 a 5,5. Determinar em suspensão aquosa contendo 50 mg/mL.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a liquido de alta eficiência* **(5.2.17.4.)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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: dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio numa mistura de 1000 mL de água e 15 mL de trietilamina. Ajustar o pH para 2,5 ± 0,1 com ácido fosfórico.

Eluente B: dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio numa mistura de 300 mL de água e 15 mL de trietilamina. Ajustar o pH para 2,5 ± 0,1 com ácido fosfórico. Adicionar 350 mL de acetonitrila, 350 mL de álcool metílico e homogeneizar.

Fase móvel: Adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0	100	0	equilíbrio
0 – 1	100	0	isocrática
1 – 33,3	100 → 0	0 → 100	gradiente linear
33,3 – 34,3	0	100	isocrática

Diluente: dissolver 18 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água.

Solução amostra: transferir 25 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Soluções padrão: dissolver quantidade de cefalexina SQR, pesada com exatidão, no *Diluente* e diluir adequadamente de modo a obter soluções a 0,08 mg/mL e 0,16 mg/mL de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$). Considerar a potência declarada da cefalexina SQR no preparo das soluções.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. Construir a curva analítica a partir das respostas obtidas para a cefalexina com as *Soluções padrão* versus as suas concentrações, calculadas em relação à substância anidra, em mg/mL. Determinar a concentração *C*, em mg/mL, de cada substância relacionada observada no cromatograma obtido com Solução amostra considerando a curva analítica obtida para a cefalexina nos cálculos. Calcular a porcentagem de cada substância relacionada à cefalexina pela fórmula:

$$\frac{500C}{A}$$

em que *A* é a quantidade calculada da substância anidra, em mg, de cefalexina tomada para preparar a *Solução amostra*. No máximo 1,0% de qualquer substância relacionada. A soma das quantidades de todas as substâncias relacionadas é de, no máximo, 5,0%.

Água (5.2.20.1). A forma hidratada possui entre 4,0% e 8,0%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: preparar 1015 mL de uma mistura de água, acetonitrila, álcool metílico e trietilamina (850:100:50:15). Dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio nesta mistura, ajustar com ácido fosfórico para pH 3,0 ± 0,1 e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra: transferir 0,1 g da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cefalexina SQR, pesada com exatidão, em água e diluir adequadamente de modo a obter uma solução estoque a 1 mg/mL. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$) por mg da amostra a partir da seguinte fórmula:

$$100\ x\ \left(\frac{C\ x\ P}{M}\right) x\ \left(\frac{R_a}{R_p}\right)$$

em que *C* é a concentração, em mg/mL, de cefalexina SQR na solução estoque utilizada para preparar a *Solução padrão*; *P* é a potência declarada de cefalexina, em µg/mg, da cefalexina SQR; *M* é a quantidade, em mg, de cefalexina tomada para preparar a *Solução amostra*; *Ra* e *Rp*, são as áreas sob os picos da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, respectivamente.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

CEFALEXINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% do valor declarado de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$). Cefalexina comprimidos são compostos de cefalexina anidra, monoidratada ou cloridrato de cefalexina com um ou mais agentes diluentes e lubrificantes adequados. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.**, **C.** *e* **D.**

A. Remover qualquer revestimento presente nos comprimidos. Triturar os comprimidos a pó fino e dissolver quantidade de pó equivalente a 0,5 g de cefalexina em 1 mL de água e 1,4 mL de ácido clorídrico *M*, adicionar 0,1 g de carvão ativado, agitar, filtrar e lavar o filtro com 1 mL de água. Adicionar lentamente ao filtrado uma solução saturada de acetato de sódio até que ocorra precipitação. Adicionar 5 mL de álcool metílico. Secar a uma pressão não excedendo 7 kPa. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cefalexina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Misturar 20 mg do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* com 0,25 mL de uma solução de ácido nítrico a 1% (v/v) em ácido sulfúrico a 80% (v/v). Desenvolve-se coloração amarela.

C. Misturar 20 mg do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* com 0,25 mL de uma solução de ácido acético glacial a 1% (v/v) e adicionar 0,1 mL de uma solução de sulfato cúprico penta-hidratado a 1% (p/v) e 0,1 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Desenvolve-se coloração verde-oliva.

D. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel não-ligada, como suporte, e mistura de ácido cítrico 0,1 *M*, fosfato de sódio dibásico 0,1 *M* e ninidrina a 6,7% (p/v) em acetona (60:40:1,5) como fase móvel. Antes do teste, colocar a placa em uma cuba contendo uma mistura de *n*-hexano e tetradecano (95:5) com 1 cm de altura, deixar o solvente percorrer toda a placa e deixar evaporar. ,. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Dissolver quantidade do pó em água de modo a obter uma concentração aproximada de 3 mg/mL de cefalexina.

Solução padrão: preparar solução aquosa contendo 3 mg/mL de cefalexina SQR.

Desenvolver o cromatograma. Aquecer a placa a 110 ºC por 10 minutos. A principal mancha obtida com a *Solução amostra* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo 30 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Cefalexina

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 262 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ dissolvida no meio, comparando-se as leituras obtidas com as da solução de cefalexina SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ se dissolvem em 30 minutos.

Cloridrato de cefalexina

Meio de dissolução, Aparelhagem e *Procedimento*: proceder como indicado para cefalexina.

Tempo: 45 minutos

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)** usando sílica-gel G como fase estacionária. Antes do teste, colocar a placa em uma cuba contendo uma mistura de *n*-hexano e tetradecano (95:5) com 1 cm de altura, deixar o solvente percorrer toda a placa e deixar evaporar. Desenvolver a cromatografia no mesmo sentido que a impregnação. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Fase móvel: mistura de acetona, solução de fosfato de sódio dibásico dodecaidratado a 7,2% (p/v) e solução de ácido cítrico a 2,1% (p/v) (3:80:120).

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Dissolver quantidade do pó equivalente a 0,25 g de cefalexina em ácido clorídrico 2 *M* e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): diluir a *Solução (1)* para 100 mL com ácido clorídrico 2 *M*.

Solução (3): solução contendo 0,025% (p/v) de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico em ácido clorídrico 2 *M.*

Solução (4): solução contendo 0,025% (p/v) de *D*-*α*-4- hidroxifenilglicina em ácido clorídrico 2 *M.*

Solução (5): solução contendo 2,5% (p/v) de cefalexina, 0,025% (p/v) de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico e 0,025% (p/v) de *D*-*α*-4- hidroxifenilglicina em ácido clorídrico 2 *M*.

Aplicar separadamente na placa 5 µL de cada solução. Desenvolver por um percurso de 15 cm. Secar a placa a 90 ºC por três minutos. Borrifar a placa quente com uma solução de ninidrina a 0,1% (p/v) na *Fase móvel*. Aquecer a placa a 90 ºC por 15 minutos e esfriar.

No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, nenhuma mancha correspondente ao ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (3)*; nenhuma mancha correspondente à *D*-*α*-4-hidroxifenilglicina é mais intensa do que a mancha obtida com a *Solução (4)*; nenhuma outra mancha secundária que apareça entre a mancha principal e as manchas correspondentes ao ácido 7-aminodesacetoxicefalosporânico e a *D*-*α*-4- hidroxifenilglicina é mais intensa do que a mancha principal no cromatograma obtido com a *Solução (2)*.

O teste não é válido a menos que apareçam três manchas claramente separadas no cromatograma obtido com a *Solução (5)*.

Água (5.2.20.1). No máximo 9,0% para comprimidos de cefalexina e 8% para comprimidos de cloridrato de cefalexina.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: empregar mistura de água, acetonitrila, álcool metílico e trietilamina (850:100:50:15). Dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio nessa mistura, ajustar o pH para 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,25 g de cefalexina para balão volumétrico de 250 mL, acrescentar 100 mL de água. Agitar mecanicamente por 30 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 25 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver, com exatidão, quantidade de cefalexina SQR em água para obter concentração de 1 mg/mL de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$). Transferir 25 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$) nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura n° 2, para a camada base; meio de cultura n° 1 para a preparação do inóculo.

Soluções amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 250 mg de cefalexina para balão volumétrico de 250 mL, com auxílio de 200 mL de *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0).* Agitar por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, para obter concentrações de 2,5 µg/mL; 5 µg/mL e 10 µg/mL, utilizando Solução 1 (*Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)* como solvente.

Soluções padrão: dissolver quantidade de cefalexina SQR, pesada com exatidão, em *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0),* de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, para obter concentrações de 2,5 µg/mL; 5 µg/mL e 10 µg/mL, utilizando *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)* como solvente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura n° 2 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Calcular a potência da amostra, em µg de cefalexina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da umidade e em temperatura inferior a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFALEXINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$). Cefalexina pó para suspensão oral é uma mistura de cefalexina com um ou mais agentes tamponantes, corantes, aromatizantes, adoçantes e conservantes.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido cítrico 0,1 *M*, fosfato de sódio dibásico 0,1 *M* e solução de ninidrina a 6,7% (p/v) em acetona (60:40:1,5), como fase móvel. Previamente, colocar a placa em uma cuba cromatográfica contendo uma mistura de hexano e tetradecano (95:5) e deixar essa mistura correr por toda a extensão da placa. Remover a placa, deixar secar ao ar. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): reconstituir o pó conforme indicado no rótulo. Preparar solução a 3 mg/mL de cefalexina em água.

Solução (2): dissolver quantidade de cefalexina SQR, pesada com exatidão, em água de modo a obter solução a 3 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar a 110 ºC por 10 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2*).

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó antes de reconstituir.

pH (5.2.19). 3,0 a 6,0. Determinar na suspensão reconstituída conforme indicado no rótulo.

ENSAIOS DE PUREZA

Determinação de água (5.2.20.1). No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: Staphylococcus aureus ATCC 6538p.

Meios de cultura: meio de cultura n° 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo e meio de cultura n° 2, para a camada base; e meio de cultura n° 1 para a preparação do inóculo.

Soluções amostra: reconstituir a suspensão conforme indicado no rótulo. Transferir volume de suspensão equivalente a 200 mg de cefalexina para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)*. Diluir para obter as concentrações de 4 µg/mL, 8 µg/mL e 16 µg/mL de cefalexina, utilizando *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)* como diluente.

Soluções padrão: dissolver quantidade de cefalexina SQR, pesada com exatidão, em *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)*, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir para obter as concentrações de 4 µg/mL, 8 µg/mL e 16 µg/mL de cefalexina, utilizando *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0)* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura n° 2 em uma placa, esperar solidificar, juntar 5 mL de inóculo a 0,05% em meio de cultura n° 1 e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros 0,1 mL da *Solução padrão* e da *Solução amostra* recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de cefalexina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 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: dissolver 1 g de 1-pentanossulfonato de sódio monoidratado em mistura de água, acetonitrila, álcool metílico e trietilamina (850:100:50:15). Ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico.

Solução amostra: reconstituir o pó conforme indicado no rótulo. Transferir volume de suspensão equivalente a 200 mg de cefalexina para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cefalexina SQR, pesada com exatidão, em água de modo a obter solução a 1 mg/mL. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

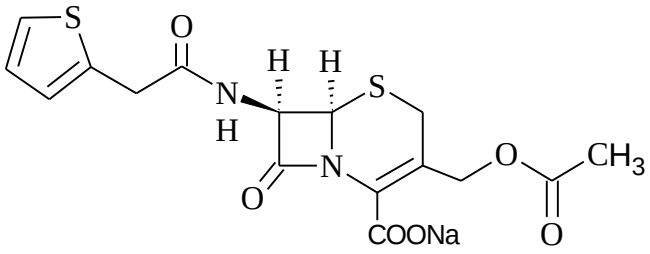
Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFALOTINA SÓDICA

Cefalotinum natricum



$C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$; 418,41
cefalotina sódica; 01836
Sal sódico do ácido (6*R*,7*R*)-3-[(acetiloxi)-metil]-8-oxo-7-[(2-tienilacetil)amino]-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico
[5*8*-*71*-*9*]

Contém, no mínimo, 850 μg de cefalotina ($C_{16}H_{16}N_2O_6S_2$) por miligrama, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco, praticamente inodoro.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, em solução salina e em solução de glicose. Insolúvel na maioria dos solventes orgânicos.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +124 a +134, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 50 mg/mL em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observadas no espectro de cefalotina sódica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0. Determinar em solução aquosa a 250 mg/mL.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*.

Solução (1): transferir 1 mL da *Solução padrão*, descrita em *Doseamento*, para balão volumétrico de 100 mL, diluir com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (2): preparar conforme descrito em *Solução amostra* em *Doseamento*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)* e *(2)*. Para a *Solução (2)*, registrar o cromatograma por, no mínimo, quatro vezes o tempo de retenção do pico principal. A área de qualquer pico secundário obtido com a *Solução (2)* é de, no máximo, a área sob o pico principal obtido com a *Solução (1)* (1%). A soma das áreas sob todos os picos secundários obtidos com a *Solução (2)* é de, no máximo, três vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (1)* (3%). Qualquer pico obtido com a *Solução (2)* com área inferior a um décimo do pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (1)* deve ser desconsiderado.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 100 mg da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC por três horas, sob pressão de, no máximo, 5 mmHg, até peso constante. No máximo 1,5%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,13 UE/mg de cefalotina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), à temperatura constante de 40 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 17 g de acetato de sódio em 790 mL de água e adicionar 0,6 mL de ácido acético glacial. Ajustar o pH para 5,9 ± 0,1 com hidróxido de sódio 0,1 *M* ou ácido acético glacial. Adicionar 150 mL de acetonitrila e 70 mL de álcool etílico e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 25 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Fase móvel*, agitar até dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cefalotina sódica SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução de resolução: aquecer em banho-maria por 10 minutos à temperatura de 90 ºC uma porção de 5 mL da *Solução padrão*. Resfriar a solução e imediatamente injetar no sistema cromatográfico.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução de resolução*. A resolução entre os dois picos principais obtidos com a *Solução de resolução* deve ser de, no mínimo, 9,0. O fator de cauda deve ser de, no máximo, 1,8 e o desvio padrão relativo da área sob o pico de cefalotina entre as replicatas das injeções da *Solução padrão* deve ser de, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de cefalotina ($C_{16}H_{16}N_2O_6S_2$) por miligrama na amostra a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CEFALOTINA SÓDICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de cefalotina sódica ($C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$).

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 6,0 a 8,5. Determinar após reconstituição da amostra com o diluente.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Rotação óptica específica (5.2.8). +124 a +134, em relação à substância anidra e livre de bicarbonato de sódio. Determinar em solução de cefalotina a 5% (p/v) em água.

Bicarbonato de sódio. Dissolver, aproximadamente, 1 g do pó para solução injetável, pesado com exatidão, em 50 mL de água. Adicionar alaranjado de metila a 0,1% (p/v) dissolvido em água e titular com ácido sulfúrico 0,05 *M* SV. Cada mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* SV equivale a 8,401 mg de $NaHCO_3$. Calcular a porcentagem de bicarbonato de sódio e usar o valor obtido para calcular a *Rotação óptica específica* em relação à base anidra e isenta de bicarbonato de sódio.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,13 UE/mg de cefalotina sódica.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, quantidade da amostra equivalente a 0,25 g de cefalotina sódica. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir no mesmo solvente até a concentração de 0,0025% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 285 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$ no pó para solução injetável, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 17 g de acetato de sódio em 790 mL de água, adicionar 0,6 mL de ácido acético glacial e, se necessário, ajustar o pH para 5,9 ± 0,1 com ácido acético glacial ou hidróxido de sódio 0,1 *M*. Adicionar 150 mL de acetonitrila, 70 mL de álcool etílico e homogeneizar.

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de um frasco em água ultrapura, agitar até completa dissolução, transferir todo o volume para balão volumétrico de 200 mL, lavar o frasco com água ultrapura e transferir para o balão. Completar o volume e homogeneizar. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo-se solução a 0,5 mg/mL de cefalotina sódica.

Solução padrão: dissolver quantidade de cefalotina sódica SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel* de modo a obter concentração final de 0,5 mg/mL de cefalotina sódica.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefalotina sódica ($C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$) no pó para solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p.

Meios de cultura: meio de cultura n° 1, para manutenção do micro-organismo e preparação do inóculo; solução salina estéril, para a padronização do inóculo; e meio de cultura n° 2, para a camada base.

Soluções amostra: reconstituir a solução injetável conforme indicado no rótulo. Transferir volume da solução injetável, medido com exatidão, para balão volumétrico, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir no mesmo solvente até obter solução a 10 µg/mL. Transferir alíquotas de 6,4 mL, 10 mL e 15,6 mL dessa solução para balões de 100 mL, completar o volume com *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0) e homogeneizar*. Obtém-se soluções a 0,64 µg/mL, 1,0 µg/mL e 1,56 µg/mL, respectivamente (A_1, A_2 e A_3).

Soluções padrão: pesar 20 mg de cefalotina sódica SQR, transferir para balão volumétrico de 20 mL e dissolver em água para obter solução a 1 mg/mL. Diluir no mesmo solvente até obter solução a 10 µg/mL. Transferir alíquotas de 6,4 mL, 10 mL e 15,6 mL dessa solução para balões de 100 mL, completar o volume com *Solução 1 (Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0) e homogeneizar*. Obtêm-se soluções a 0,64 µg/mL, 1,0 µg/mL e 1,56 µg/mL, respectivamente (P_1, P_2 e P_3).

Procedimento: pipetar 20 mL de meio de cultura n° 2 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,1% em meio de cultura n° 1 e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros 0,1 mL da *Solução padrão* e da *Solução amostra* recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de cefalotina sódica por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

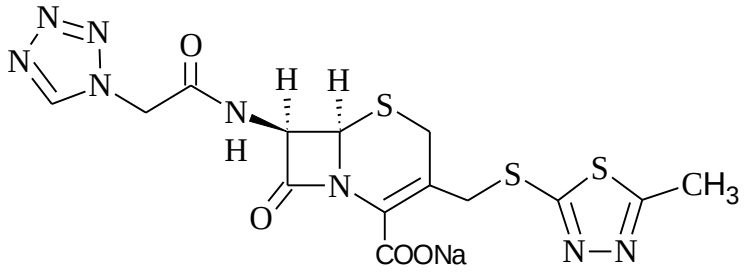
Em recipientes bem fechados, em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFAZOLINA SÓDICA

Cefazolinum natricum



$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$; 476,48
cefazolina sódica; 01846
Sal sódico do ácido (6*R*,7*R*)-3-[[(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)sulfanil]metil]-8-oxo-7-[[1*H*-tetrazol-1-ilacetil]amino]-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico
[*27164-46-1*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 102,0% de cefazolina sódica ($C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$), em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, muito higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito solúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -10 a -24, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 5,5% (p/v) em bicarbonato de sódio 0,1 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente submetida ao procedimento descrito a seguir, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observadas no espectro de cefazolina SQR, preparado de maneira idêntica.

Procedimento: dissolver 0,150 g da amostra em 5 mL de água, adicionar 0,5 mL de ácido acético diluído a 12% (p/v), agitar e deixar em repouso durante 10 minutos em banho de gelo. Filtrar o precipitado e enxaguar com 1 mL a 2 mL de água. Dissolver em uma mistura de 1 mL de água e 9 mL de acetona. Evaporar o solvente quase à secura e dessecar em estufa a 60 ºC durante 30 minutos.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. A solução da amostra a 5% (p/v) em água satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 10% (p/v).

Água (5.2.20.1). No máximo 6%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,15 UE/mg de cefazolina sódica.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 nm 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 1,8 mL/minuto.

Tampão pH 3,6: transferir 0,9 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 1,298 g de ácido cítrico monoidratado para balão volumétrico de 1000 mL, dissolver em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Tampão pH 7,0: transferir 5,68 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 3,63 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 1000 mL, dissolver em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 3,6* e acetonitrila (8:2).

Solução de padrão interno: transferir 0,75 g de ácido salicílico para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 10 mL de álcool metílico, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de cefazolina SQR para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno*, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 26,2 mg da amostra (equivalente a 25 mg de cefazolina) para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno,* completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar.

A eficiência da coluna deve ser de, no mínimo, 1500 pratos teóricos. O fator de cauda para o pico da cefazolina deve ser de, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas sob os picos das replicatas registradas deve ser de, no máximo, 2,0%. O tempo de retenção relativo é de, aproximadamente, 1,3 para o ácido salicílico e de 1,0 para a cefazolina.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à cefazolina e ao ácido salicílico. Calcular o teor de cefazolina sódica ($C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$) na amostra a partir das respostas obtidas com a relação cefazolina/ácido salicílico, nas *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, entre 2 ºC e 8 ºC.

ROTULAGEM

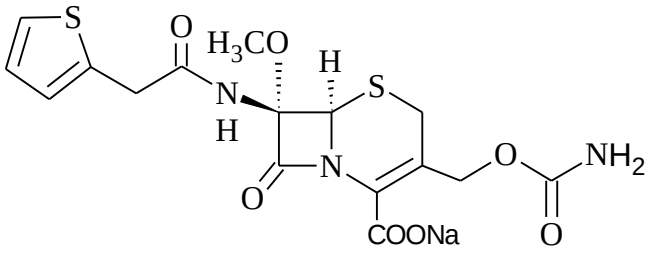
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CEFOXITINA SÓDICA

Cefoxitinum natricum



$C_{16}H_{16}N_3NaO_7S_2$; 449,43
cefoxitina sódica; 01883
Sal de sódio do ácido (6*R*,7*S*)-3-[[(aminocarbonil)oxi]metil]-7-metoxi-8-oxo-7-[(2-tienilacetil)amino]-5-tia-1- azabiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico (1:1)
[*33564-30-6*]

Contém, no mínimo, 927 μg e, no máximo, 970 μg de cefoxitina ($C_{16}H_{17}N_3O_7S_2$) por miligrama, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, muito higroscópico.

Solubilidade. Muito solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +206 a +214, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,002% (p/v) em tampão fosfato pH 7,1, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observadas no espectro de cefoxitina sódica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. A solução da amostra a 5% (p/v) em água satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,2 a 7,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte, e mistura de ácido acético glacial, água, acetona e acetato de etila (10:10:20:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 0,25 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL, dissolver em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Água (5.2.20.1). No máximo 1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,13 UE/mg de cefoxitina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido acético glacial (84:16:1). Alternativamente, utilizar mistura de água, acetonitrila e ácido trifluoracético (84:16:1).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, quantidade da amostra equivalente a cerca de 0,15 g de cefoxitina para balão volumétrico de 500 mL, dissolver em tampão fosfato pH 7,1, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Utilizar essa solução em, no máximo, cinco horas.

Solução padrão: pesar, com exatidão, e dissolver em tampão fosfato pH 7,1, quantidade de cefoxitina SQR suficiente para preparar solução a 0,3 mg/mL. Utilizar essa solução em, no máximo, 5 horas.

A eficiência da coluna é de, no mínimo, 2800 pratos teóricos. O fator de cauda para o pico da cefoxitina é de, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de cefoxitina ($C_{16}H_{17}N_3O_7S_2$) na amostra de cefoxitina sódica a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, entre 2 ºC e 8 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CEFOXITINA SÓDICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém cefoxitina sódica equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de cefoxitina ($C_{16}H_{17}N_3O_7S_2$).

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. A solução da amostra a 5% (p/v) em água satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar no frasco do diluente.

pH (5.2.19). 4,2 a 7,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó não reconstituído.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,13 UE/mg de cefoxitina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Cefoxitina sódica*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de um frasco ampola em volume de água destilada, medido com exatidão, 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, cinco horas.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução 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

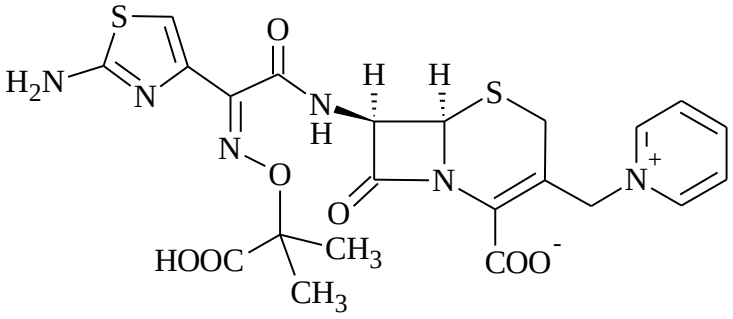
Em recipientes bem fechados, entre 2 ºC e 8 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CEFTAZIDIMA PENTAIDRATADA

Ceftazidimum pentahydricum



$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2.5H_2O$; 636,65
ceftazidima pentaidratada; 09370
Sal interno de 1-[[(6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-(2-amino-4-tiazolil)[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil]piridínio hidratado (1:5)
[*78439-06-2*]

Contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 102% de ceftazidima ($C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água. Pouco solúvel em álcool metílico, praticamente insolúvel em acetona e álcool. Dissolve-se em soluções ácidas e alcalinas.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observadas no espectro de ceftazidima SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** de *Doseamento*, corresponde ao pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa da amostra a 0,5% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra por meio de ajuste micrométrico.

Limite de piridina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo líquido provido de detector ultravioleta a 255 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. Preparar as soluções imediatamente antes do uso..

Fase móvel: mistura, filtrada e desgaseificada, de uma solução contendo 28,8 g/L de fosfato de amônio dibásico, com pH previamente ajustado para 7,0 com amônia, acetonitrila e água (8:24:68).

Solução amostra: dissolver 0,5 g da amostra em uma solução de tampão fosfato pH 7,0 a 10% (v/v) e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução padrão: dissolver 1 g de piridina em água e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir 5 mL dessa solução para 200 mL com água. A 1 mL da nova solução adicionar 10 mL de solução tampão fosfato pH 7,0 e diluir para 100 mL com água.

Solução de resolução: diluir 1 mL da *Solução amostra* para 200 mL com uma solução de tampão fosfato pH 7,0 a 10% (v/v). A 1 mL dessa solução, adicionar 20 mL de *Solução padrão* e diluir para 200 mL com solução de tampão fosfato pH 7,0 a 10% (v/v).

Injetar 20 μL da *Solução de resolução*. A resolução entre o pico de ceftazidima e de piridina é de, no mínimo, 7,0. O desvio padrão relativo da área sob o pico principal obtido após seis injeções de 20 μL da *Solução padrão* é de, no máximo, 1%.

Procedimento: injetar, alternadamente, 20 μL da *Solução amostra* e da *Solução padrão,* registrar as áreas sob os picos picos para a *Solução padrão* e a *Solução amostra* e determinar a quantidade de piridina. No máximo 500 ppm de piridina.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,2 g da amostra, em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida de, no máximo, 5 mm de mercúrio, por três horas. Perda entre 13% e 15%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,10 UE/mg de ceftazidima.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito para *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 245 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo hexilsilano ou octilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 4,26 g de fosfato de sódio dibásico e 2,73 g de fosfato de potássio monobásico em água, num balão de 1000 mL e ajustar, com água, para 980 mL, adicionar 20 mL de acetonitrila e completar o volume com água. Homogeneizar. Ajustar para pH 7,0 com ácido fosfórico. Filtrar em membrana de 1 μm ou menos, e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra: dissolver 25 mg da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, completar o volume para 25 mL utilizando o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver 25 mg de ceftazidima SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel*, completar o volume para 25 mL utilizando o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução de resolução: dissolver 5 mg de ceftazidima delta-3-isômero SQR, pesada com exatidão, em 5 mL da *Solução padrão.*

Injetar 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre ceftazidima e ceftazidima delta-3-isômero é de, no mínimo, 1,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de ceftazidima ($C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* (**5.5.3.3**), pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Meios de cultura: meio de cultura n° 2, para a camada base, e meio de cultura n° 1, para a camada de superfície.

Soluções amostra: preparar a solução estoque em água destilada. Preparar soluções da amostra diluída em *Tampão fosfato pH 6,0* nas concentrações equivalentes a 100 µg/mL, 200 µg/mL e 400 µg/mL de ceftazidima.

Soluções padrão: preparar a solução estoque em água destilada. Preparar soluções diluídas de ceftazidima SQR em *Tampão fosfato pH 6,0* nas concentrações de 100 µg/mL, 200 µg/mL e 400 µg/mL.

Procedimento: adicionar 21 mL de meio de cultura n° 2 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 4 mL do meio de cultura n° 1 contendo o inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* (**5.5.3.3.1**), utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de ceftazidima por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados. Sendo destinado à produção de formas farmacêuticas injetáveis, deverá ser embalado em recipientes estéreis.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CEFTAZIDIMA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 105% de ceftazidima ($C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$) em relação à substância dessecada e isenta de carbonato de sódio ou arginina e, no mínimo, 90% e, no máximo, 120% da quantidade declarada de ceftazidima. Ceftazidima pó para solução injetável é uma mistura estéril de ceftazidima com carbonato de sódio ou arginina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Identificação* da monografia de *Ceftazidima pentaidratada*.

B. Dissolver a amostra em ácido clorídrico *M*; ocorre efervescência. Borbulhar o gás produzido em hidróxido de cálcio SR. Há a formação de um precipitado branco imediatamente.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,5, numa solução contendo 100 mg de ceftazidima por mL, constituída no recipiente selado, tomando-se o cuidado de eliminar a pressão dentro do recipiente durante a reconstituição.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Conteúdo de carbonato de sódio (se presente).

Solução de cloreto de potássio: dissolver 19,07 g de cloreto de potássio em água, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cloreto de sódio, previamente dessecado a 105 ºC por duas horas, em água para obter uma solução com concentração de 14 µg/mL. Transferir 10 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de *Solução de cloreto de potássio*, completar volume com mesmo solvente e homogeneizar.

Solução amostra: utilizar solução estoque, descrita em *Solução amostra 1*, no método **A.** de *Doseamento*. Diluir, quantitativamente, passo a passo, se necessário, com água, para obter solução contendo, aproximadamente, 12,5 µg/mL de carbonato de sódio. Transferir 10 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de solução de cloreto de potássio, completar volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL de *Solução de cloreto de potássio* para balão volumétrico de 100 mL, diluir com água para completar o volume e homogeneizar.

Procedimento: determinar as absorvâncias da *Solução padrão* e da *Solução amostra* em 589 nm, utilizando espectrofotômetro de absorção atômica **(5.2.13.1)**, equipado com lâmpada de sódio e

chama de ar-acetileno, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular a porcentagem de carbonato de sódio, segundo a expressão:

$$\left(\frac{105{,}99}{116{,}88}\right)\times\left(\frac{0{,}1C}{M}\right)\times\left(\frac{Au}{As}\right)$$

em que

105,99 = massa molar do carbonato de sódio;
116,88 = dobro da massa molar do cloreto de sódio;
C = concentração, em µg/mL, de cloreto de sódio na *Solução padrão*;
M = quantidade, em mg, de ceftazidima pó para solução injetável em cada mL da *Solução amostra*, baseada na quantidade usada para preparar a solução estoque e na diluição;
Au e *As* = absorbâncias da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, respectivamente.

Usar esta percentagem, correspondente à substância anidra e isenta de carbonato de sódio, no cálculo do método **B.** de *Doseamento* em *Solução amostra 1*.

Conteúdo de arginina (se presente). Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 206 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo diidroxipropano (diol) (3 µm a 10 µm) e uma pré-coluna de 50 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica (30 µm a 50 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 1,15 g de fosfato de amônio monobásico em aproximadamente 800 mL de água. Ajustar o pH para 2,0 ± 0,1 com ácido fosfórico e diluir para 1000 mL com água. Preparar mistura filtrada e desgaseificada de acetonitrila e da solução previamente descrita (750:250). Fazer ajustes, se necessário.

Solução padrão: dissolver quantidade de ceftazidima pentaidratada SQR e L-arginina SQR em água para obter solução com concentração de 0,2 mg/mL de cada substância.

Solução amostra: dissolver quantidade de amostra em água para obter solução com concentração de 0,2 mg/mL de ceftazidima.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O fator de cauda é de, no máximo, 4,0. A resolução entre os picos de ceftazidima e arginina é de, no mínimo, 6,0. Calcular a quantidade de arginina na amostra, segundo a expressão:

$$100\left(\frac{Cs}{Cu}\right)\times\left(\frac{ru}{rs}\right)$$

em que

Cs = concentração, em mg/mL, de L-arginina SQR na *Solução padrão*;
Cu = concentração, em mg/mL, de ceftazidima pó para solução injetável na *Solução amostra*;
ru e *rs* = áreas sob os picos de arginina obtidas para a *Solução amostra* e para a *Solução padrão*, respectivamente.

Utilizar esta percentagem, correspondente à substância anidra e isenta de arginina, no cálculo do método **A.** de *Doseamento* em *Solução amostra 1*.

Limite de piridina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,6 mL/minuto.

Fase móvel: misturar acetonitrila, fosfato de amônio monobásico 0,25 *M* e água (300:100:600), ajustando o pH para 7,0 ± 0,1 com hidróxido de amônio. Filtrar em membrana com tamanho de poro igual ou inferior a 1 µm de diâmetro e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Tampão pH 7,0: dissolver 5,68 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 3,63 g de fosfato de potássio monobásico em água para completar 1000 mL. Ajustar o pH com ácido fosfórico, se necessário.

Solução padrão: transferir cerca de 250 mg de piridina, pesados com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL e diluir em água. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, transferir 2 mL desta solução para balão volumétrico de 200 mL e diluir com *Tampão pH 7,0* para obter solução com concentração final de 25 µg/mL de piridina.

Solução amostra: transferir cerca de 660 mg de ceftazidima pó para solução injetável, previamente removida do frasco-ampola e pesada, para balão volumétrico de 100 mL e diluir com *Tampão pH 7,0*. Esta solução deve ser armazenada em local frio e utilizada dentro de, no máximo, uma hora.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos de piridina. O fator de cauda é de, no máximo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é de, no máximo, 3%. Calcular a quantidade de piridina na amostra, segundo a expressão:

$$10\left(\frac{C}{W}\right)\times\left(\frac{ru}{rs}\right)$$

em que

C = concentração, em µg/mL, de piridina na *Solução padrão*;
W = peso, em mg, de ceftazidima pó para solução injetável;
ru e *rs* = áreas sob o pico de piridina obtidas para a *Solução amostra* e para a *Solução padrão*, respectivamente.

No máximo 0,4% de piridina são encontradas quando o pó para solução injetável contém carbonato de sódio; e no máximo 0,3% quando o pó para solução injetável contém arginina.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Secar cerca de 0,3 g da amostra, previamente pesada, em estufa, a 25 ºC, sob pressão máxima de 5 mmHg, por quatro horas. Na amostra contendo arginina, a perda é de, no máximo, 12,5% do peso. Na amostra contendo carbonato de sódio, a perda é de, no máximo, 13,5% do peso. Na amostra contendo arginina, usar a percentagem de perda, *m*, para calcular a massa da substância dessecada e isenta de arginina, no resultado da *Solução amostra 1*, em *Doseamento*. Na amostra contendo carbonato de sódio, aquecer o resíduo, sob pressão máxima de 5 mmHg, a 100 ºC por três horas, e calcular a percentagem total de peso perdido. Usar esse percentual, *m*, para calcular a massa da substância dessecada e isenta de carbonato de sódio, no resultado da *Solução amostra 1*, obtida no método **A.** de *Doseamento*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Empregar o *método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,10 UE/mg de ceftazidima.

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5µm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Tampão pH 7,0: dissolver 42,59 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 27,22 g de fosfato de potássio monobásico em 900 mL de água. Ajustar o pH com ácido fosfórico, se necessário. Completar o volume para 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: misturar 40 mL de acetonitrila e 200 mL de *Tampão pH 7,0* e diluir com água para obter volume final de 2 L. Filtrar com filtro de porosidade de 1 µm ou menos e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra 1: transferir quantidade da amostra, pesada com exatidão, equivalente a 250 mg de ceftazidima, para balão volumétrico de 250 mL. Diluir com água até completar o volume para obter a solução estoque. Proteger esta solução da luz. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL. Diluir com água para completar o volume e homogeneizar.

Solução amostra 2 (utilizada para os recipientes de dose única): reconstituir o pó de ceftazidima para solução injetável em água, conforme especificado no rótulo do medicamento. Retirar todo o conteúdo do recipiente utilizando uma agulha hipodérmica. Diluir quantitativamente a solução com água para obter uma solução final de 1 mg/mL. Proteger esta solução estoque da luz. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL. Diluir com água para completar o volume e homogeneizar.

Solução amostra 3 (utilizada quando o rótulo do medicamento estabelece a quantidade de ceftazidima em um volume da solução reconstituída): reconstituir o pó de ceftazidima para solução injetável em um volume de água, medido com exatidão, correspondente ao volume de solvente especificado no rótulo do medicamento. Diluir, quantitativamente, um volume desta solução, medido com exatidão, em água, para obter solução a 1 mg/mL. Proteger esta solução estoque da luz. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: transferir cerca de 29 mg de ceftazidima pentaidratada SQR, pesados com exatidão, para balão volumétrico de 25 mL, contendo 2,5 mL de *Tampão pH 7,0*; misturar até completa dissolução. Diluir com água para completar o volume e homogeneizar. Proteger essa solução estoque da luz. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, transferir 5 mL dessa solução estoque para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Essa solução contém aproximadamente 100 µg/mL de ceftazidima.

Solução de resolução: preparar uma solução do isômero delta 3 de ceftazidima SQR a 0,1 mg/mL em *Tampão pH 7,0* . Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, misturar 1 mL dessa solução com 8 mL de água e 1 mL da solução estoque utilizada para preparar a *Solução padrão* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra* e medir as áreas sob os picos. Para a *Solução amostra 2* e a *Solução amostra 3*, calcular a quantidade, em mg, de ceftazidima ($C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$) na amostra analisada, segundo a expressão:

$$C \times \left(\frac{ru}{rs} \right)$$

em que

C = concentração, em µg/mL, de ceftazidima na *Solução padrão*;
ru e *rs* = áreas sob os picos obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução padrão*, respectivamente.

Para a *Solução amostra 1*, calcular a quantidade de ceftazidima dessecada e isenta de carbonato de sódio ou arginina numa amostra de ceftazidima pó para solução injetável, segundo a expressão:

$$25\,000 \left[{}^{C}/_{W} \ (100 - m - s) \right] x \left(\frac{ru}{rs} \right)$$

em que

C = concentração, em µg/mL, de ceftazidima na *Solução padrão*;
W = quantidade, em mg, de ceftazidima pó para solução injetável usado para preparar a *Solução amostra 1*;
m = quantidade de perda por dessecação;
s = porcentagem de carbonato de sódio ou arginina presente na amostra;
ru e *rs* = áreas sob os picos obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução padrão*, respectivamente.

Calcular a quantidade, em mg, de ceftazidima retirada do recipiente de origem, ou na porção da solução reconstituída, segundo a expressão:

$$\left(\frac{L}{D} \right) \times C \times \left(\frac{ru}{rs} \right)$$

em que

L = valor rotulado, em mg, de ceftazidima no recipiente, ou no volume da solução reconstituída;
D = concentração, em µg/mL, de ceftazidima na *Solução amostra 2* ou na *Solução amostra 3*, baseado no valor rotulado do recipiente ou na porção da solução reconstituída, respectivamente, e na diluição.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* (**5.5.3.3**), pelo método de difusão em ágar. Reconstituir o conteúdo de 10 frascos conforme indicado pelo fabricante.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura n° 2, para a camada base, e meio de cultura n° 1, para a camada de superfície.

Soluções amostra: preparar a solução estoque em água destilada. Preparar soluções da amostra diluída em *Tampão fosfato pH 6,0* com concentrações equivalentes a 100 µg/mL, 200 µg/mL e 400 µg/mL de ceftazidima.

Soluções padrão: preparar a solução estoque em água destilada. Preparar soluções diluídas de ceftazidima SQR em *Tampão fosfato pH 6,0* nas concentrações de 100 µg/mL, 200 µg/mL e 400 µg/mL.

Procedimento: adicionar 21 mL de meio de cultura n° 2 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 4 mL do meio de cultura n° 1 contendo o inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* (**5.5.3.3.1**), utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de ceftazidima por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CETOCONAZOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de *n*-hexano, acetato de etila, álcool metílico, água e acido acético glacial (42:40:15:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Dissolver quantidade da amostra equivalente a 50 mg de cetoconazol em clorofórmio, agitar por cerca de dois minutos, completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): dissolver 10 mg de cetoconazol SQR em clorofórmio, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma em cuba não saturada. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 270 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cetoconazol SQR na concentração de 0,01% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 225 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e acetato de amônio a 0,5% (p/v) (95:5).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesado com exatidão, equivalente a 0,1 g de cetoconazol, para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir o filtrado até a concentração de 0,1 mg/mL, utilizando álcool metílico como solvente.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cetoconazol SQR em álcool metílico e diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CETOCONAZOL XAMPU

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 232 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 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 7,0: dissolver 2,8 g de fosfato de sódio dibásico em 1000 mL de água. Ajustar o pH para 7,0 com ácido fosfórico.

Fase móvel: preparar uma mistura de acetonitrila, álcool metílico, tetraidrofurano e *Tampão fosfato pH 7,0* (390:95:15:500), acrescentando-se 2,5 mL de uma solução de hidróxido de tetrametilamônio a 25% (p/v) em álcool metílico. Filtrar e desgaseificar.

Solução amostra: transferir quantidade de xampu, pesada com exatidão, equivalente a 20 mg de cetoconazol, para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos para dissolver. Completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em papel de filtro. Transferir 2,5 mL dessa preparação para um balão volumétrico de 10 mL, acresentar 1,5 mL de álcool metílico, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 10 mg de cetoconazol SQR e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de álcool metílico e agitar para dissolver. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir uma alíquota de 5 mL para balão volumétrico de 10 mL. Acrescentar 1 mL de álcool metílico, completar o volume com água e homogeneizar.

O desvio padrão relativo das áreas de replicatas, da solução padrão, dos picos registrados é de, no máximo, 2%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ na amostra, a partir das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

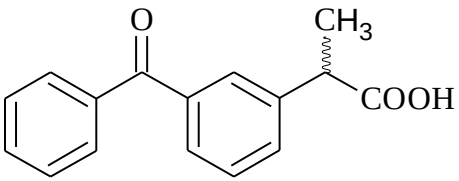
Em recipientes hermeticamente fechados e ao abrigo do calor excessivo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CETOPROFENO

Ketoprofenum



$C_{16}H_{14}O_3$; 254,28
cetoprofeno; 01960
Ácido 3-benzoil-*α*-metilbenzenoacético
[*22071-15-4*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{16}H_{14}O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 94 ºC a 97 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -1 a +1, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro do cetoprofeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximo de absorção em 255 nm. A absorvância obtida em 255 nm é de 0,615 a 0,680.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 233 nm, coluna de 150 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.

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

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

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

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

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 2250 pratos teóricos. O fator de cauda para o pico do cetoprofeno deve ser de, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 5,0%.

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

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método II*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60° C, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

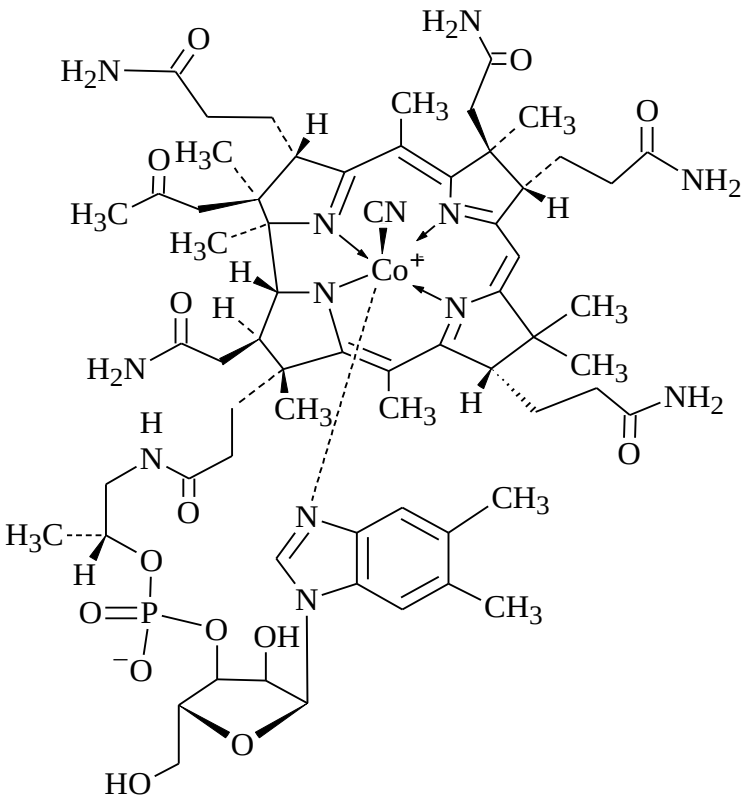
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

CIANOCOBALAMINA

Cyanocobalaminum



$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$; 1355,39
cianocobalamina; 01984
Cianeto de α-(5,6-Dimetilbenzimidazol-1-il) cobamida
[*68-19-9*]

Contém, no mínimo, 96,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou cristais, vermelho-escuro.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água e álcool etílico 96%.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta e no visível **(5.2.14)**, na faixa de 260 nm a 610 nm, de solução a 0,0025% (p/v) em água, há máximos de absorção em 278 nm, 361 nm e de 547 nm a 559 nm, idênticos aos observados no espectro da solução de cianocobalamina SQR, preparada de maneira idêntica.

B. Proceder ao abrigo da luz, conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel G como suporte, e mistura de amônia SR, álcool metílico e cloreto de metileno (9:30:45), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 2 mg/mL da amostra em mistura de álcool etílico e água (1:1).

Solução (2): solução a 2 mg/mL de cianocobalamina SQR em mistura de álcool etílico e água (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 20,0 mg da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo 12,0%.

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 361 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e solução de fosfato de sódio dibásico a 1% (p/v) ajustada a pH 3,5 com ácido fosfórico (26,5:73,5). Utilizar em até 48 horas.

Solução (1): dissolver 10,0 mg da amostra em *Fase móvel*, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Utilizar em até uma hora.

Solução (2): transferir 3,0 mL da *Solução (1)*, diluir para 100 mL com *Fase móvel* e homogeneizar. Utilizar em até uma hora.

Solução (3): transferir 5,0 mL da *Solução (1)*, diluir para 50 mL com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Utilizar em até uma hora.

Solução (4): dissolver 25,0 mg da amostra em 10 mL de água e aquecer levemente se necessário. Esfriar. Adicionar a esta solução 5 mL de cloramina a 0,1% (p/v), 0,5 mL de ácido clorídrico 0,05 *M* e diluir para 25 mL com água. Homogeneizar a solução e aguardar por cinco minutos. Diluir 1 mL desta solução para 10 mL com Fase móvel e injetar imediatamente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o triplo do tempo de retenção do pico principal. A soma de todas as áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)*, exceto a do pico do solvente, é de, no máximo, a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (3%). Não considerar picos com área inferior àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a com a *Solução (3)* (0,1%). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (4)* apresentar resolução, entre os dois picos principais, de no mínimo 2,5 e se, no cromatograma obtido com a *Solução (3)*, a relação sinal/ruído for superior a 5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,4 UE/µg de cianocobalamina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e dissolver em água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 361 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina.

CIANOCOBALAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta e no visível **(5.2.14)**, na faixa de 300 nm a 550 nm, da solução amostra obtida no *Doseamento*, há máximos de absorção idênticos aos observados no espectro da solução padrão. A razão entre os valores de absorvância medidos em 361 nm e 550 nm está compreendida entre 3,15 e 3,40.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,4 UE/µg de cianocobalamina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução injetável equivalente a 0,3 mg de cianocobalamina para balão volumétrico e diluir em água até concentração de 0,003% (p/v). Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 361 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ na solução injetável a partir das leituras obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

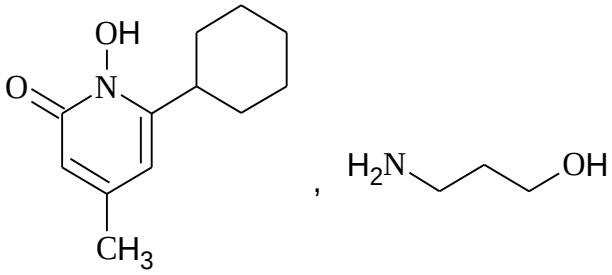
Em recipiente de dose simples de vidro tipo I, à temperatura ambiente e protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CICLOPIROX OLAMINA

Ciclopirox olaminum



$C_{12}H_{17}NO_2.C_2H_7NO$; 268,36
ciclopirox olamina; 09336
6-Cicloexil-1-hidroxi-4-metil-2(1*H*)-piridinona com 2-aminoetanol (1:1)
[*41621-49-2*]

Contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 101,5% de ciclopirox olamina ($C_{12}H_{17}NO_2.C_2H_7NO$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou amarelo pálido.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, muito solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ciclopirox olamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} como suporte, e mistura de amônia 13,5 *M*, água e álcool etílico (10:15:75), como fase móvel. Preparar duas placas. Aplicar, separadamente, à cada placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 25 mg da amostra, pesados com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e dissolver com álcool metílico. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução (2): transferir 25 mg de ciclopirox olamina SQR para balão volumétrico de 10 mL e dissolver com álcool metílico. Completar o volume com álcool metílico e e homogeneizar.

Antes de desenvolver o cromatograma, eluir as placas com uma mistura de amônia 13,5 *M*, água e álcool etílico (10:15:75). A mistura deve migrar até o topo da placa. Deixar as placas secarem à temperatura ambiente durante cinco minutos. Após a aplicação da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, desenvolver os cromatogramas. Remover a placa, deixar secar ao ar durante 10 minutos. Examinar uma das placas sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v) em álcool metílico. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Nebulizar a outra placa

com ninidrina SR e aquecer a 110 ºC até o aparecimento das manchas. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 8,0 a 9,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa, sob pressão reduzida. No máximo 1,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Dissolver 0,2 g da amostra, previamente dessecada, em 2 mL de álcool metílico. Adicionar 38 mL de água, agitar e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Fazer o branco e efetuar as correções necessárias. Padronizar a solução de hidróxido de sódio 0,1 *M* utilizando 0,1 g de ácido benzoico, previamente pesado, e realizando a titulação nas condições descritas acima. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 12,212 mg de ácido benzoico ($C_7H_6O_2$). Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 26,84 mg de ciclopirox olamina ($C_{12}H_{17}NO_2.C_2H_7NO$).

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* (**5.5.3.3**), pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Candida albicans* ATCC 10231.

Meios de cultura: solução fisiológica estéril, para padronização do inóculo, e meio de cultura n° 19, para a camada inoculada.

Soluções amostra: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 25 mL com auxílio de dimetilsulfóxido. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter as concentrações de 56 µg/mL, 84 µg/mL e 126 µg/mL, utilizando tampão fosfato pH 7,2, estéril, como solvente.

Soluções padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg de ciclopirox olamina SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL com auxílio de dimetilsulfóxido. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter as concentrações de 56 µg/mL, 84 µg/mL e 126 µg/mL, utilizando tampão fosfato pH 7,2, estéril, como solvente.

Procedimento: adicionar 8 mL de meio de cultura n° 19, inoculado à 1% com a suspensão padronizada do micro-organismo, em cada placa, esperar solidificar e proceder conforme descrito em *Ensaio*

microbiológico por difusão em ágar **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Calcular a potência da amostra em μg de ciclopirox olamina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

CICLOPIROX OLAMINA SOLUÇÃO TÓPICA

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de ciclopirox olamina ($C_{12}H_{17}NO_2.C_2H_7NO$).

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0008% (p/v) em álcool metílico, há máximos e mínimos, idênticos aos observados no espectro de ciclopirox olamina SQR, preparado de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Candida albicans* ATCC 10231.

Meios de cultura: solução fisiológica estéril, para padronização do inóculo e meio de cultura n° 19, para a camada inoculada.

Tampão fosfato pH 7,2, estéril: misturar 250 mL de fosfato de potássio monobásico 0,2 *M* e 175 mL de hidróxido de sódio 0,2 *M*. Completar o volume para 1000 mL com água e homogeneizar. Esterilizar a solução por 20 minutos em autoclave a 121 ºC.

Soluções amostra: transferir, com auxílio de pipeta volumétrica, volume equivalente a 25 mg de ciclopirox olamina para balão volumétrico de 25 mLcom auxílio de dimetilsulfóxido. Completar o volume com dimetilsulfóxido e homogeneizar. Diluir para obter as concentrações de 56 µg/mL, 84 µg/mL e 126 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato pH 7,2, estéril* como diluente.

Soluções padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg de ciclopirox olamina SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL e dissolver com o auxílio de dimetilsulfóxido. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter as concentrações de 56 µg/mL, 84 µg/mL e 126 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato pH 7,2, estéril* como diluente.

Procedimento: adicionar 8 mL de meio de cultura n° 19, inoculado a 1% com a suspensão padronizada do micro-organismo, em cada placa, esperar solidificar e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Calcular a quantidade, em µg de ciclopirox olamina na amostra, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 300 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), capeada, mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (50:50).

Solução amostra: transferir volume equivalente a 25 mg de ciclopirox olamina para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver com dimetilsulfóxido, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 25 mg de ciclopirox olamina SQR para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver com dimetilsulfóxido, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento de derivatização: transferir, separadamente, 2 mL da *Solução padrão* para tubo de ensaio de 10 mL. Adicionar 1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e 0,2 mL de sulfato de dimetila. Agitar em vórtex. Colocar em banho-maria a 37 ºC, por 15 minutos. Acrescentar 0,2 mL de trietilamina. Agitar em vórtex. Diluir a solução resultante com *Fase móvel*, até a concentração de 40 µg/mL. Repetir o mesmo procedimento utilizando 2 mL de *Solução amostra*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* após o processo de derivatização, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de ciclopirox olamina ($C_{12}H_{17}NO_2.C_2H_7NO$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

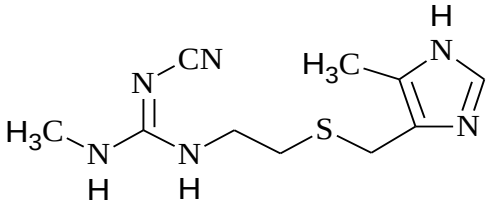
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CIMETIDINA

Cimetidinum



$C_{10}H_{16}N_6S$; 252,34
cimetidina; 02073
N-Ciano-*N*'-metil-*N*"-[2-[[(4-metil-1*H*-imidazol-5-il) metil]tio]etil]guanidina
[*51481-61-9*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{10}H_{16}N_6S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, solúvel em álcool etílico. Solúvel em ácidos minerais diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 139 ºC a 144 ºC. Se necessário, dissolver a substância em álcool isopropílico, evaporar até secura e determinar novamente a faixa de fusão.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C**.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada a 105 ºC, até peso constante, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cimetidina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução a 0,0012% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em 218 nm, idêntico ao observado no espectro de cimetidina SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Proceder conforme descrito em *Substâncias Relacionadas*. A mancha principal obtida com a *Solução (2)* é similar em posição, cor e tamanho àquela obtida com a *Solução (6)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de amônia 13,5 *M*, álcool metílico e acetato de etila (15:20:65), como fase móvel. Saturar a cuba, por 15 minutos, com o vapor da fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,5 g da amostra em 10 mL de álcool metílico.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com álcool metílico.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool metílico e diluir 20 mL desta solução para 100 mL com álcool metílico.

Solução (4): diluir 5 mL da *Solução (3)* para 10 mL com álcool metílico.

Solução (5): diluir 5 mL da *Solução (4)* para 10 mL com álcool metílico.

Solução (6): dissolver 10 mg de cimetidina SQR em 2 mL de álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar em corrente de ar, examinar sob luz ultravioleta (254 nm) ou deixar sob vapor de iodo até obter o máximo contraste das manchas. Qualquer mancha secundária obtida com a *Solução (1)* (5%) não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (3)* (0,001%) e, no máximo, duas manchas podem ser mais intensas que a mancha principal obtida com a *Solução (4)* (0,0005%). Para que o ensaio seja válido, o cromatograma obtido com a *Solução (5)* deve apresentar mancha nitidamente visível.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra em 60 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 25,234 mg de $C_{10}H_{16}N_6S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 200 mL de álcool metílico, 0,3 mL de ácido fosfórico e completar o volume para 1000 mL com água.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em uma mistura de álcool metílico e água (1:4). Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos, completar o volume com o

mesmo solvente e homogeneizar, obtendo solução a 0,4 mg/mL. Realizar diluições sucessivas até concentração de 8 µg/mL, utilizando *Fase móvel* como diluente.

Solução padrão: dissolver quantidade de cimetidina SQR, pesada com exatidão, em uma mistura de álcool metílico e água (1:4), de modo a obter uma solução a 0,1 mg/mL. Diluir com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 8 µg/mL.

A eficiência da coluna deve ser de, no mínimo, 1000 pratos teóricos/metro. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{16}N_6S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antagonista do receptor H2.

CIMETIDINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{16}N_6S$.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 218 nm, idêntico ao observado no espectro de cimetidina SQR, preparado de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 15 minutos.

Procedimento: retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e, se necessário, diluir com ácido sulfúrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 218 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido sulfúrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de cimetidina ($C_{10}H_{16}N_6S$) dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cimetidina SQR, na concentração de 0,0005% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{10}H_{16}N_6S$ se dissolvem em 15 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cimetidina para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 50 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Agitar por 30 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,0012% (p/v), utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 218 nm, utilizando ácido

clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{16}N_6S$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.
B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cimetidina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 40 mg de cimetidina para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 20 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 8 μg/mL, utilizando *Fase móvel* como solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{16}N_6S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

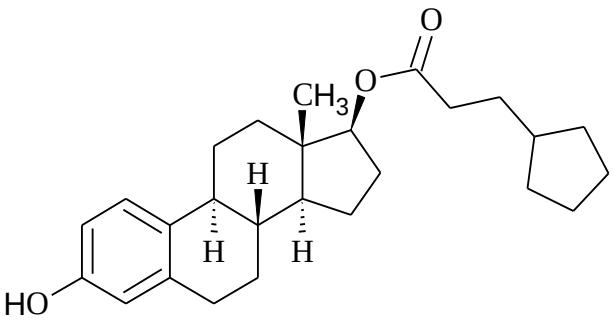
Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CIPIONATO DE ESTRADIOL

Estradioli cypionas



$C_{26}H_{36}O_3$; 396,57
cipionato de estradiol; 03599
17β-ciclopentanopropionato de estradiol
[*313-06-4*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de cipionato de estradiol ($C_{26}H_{36}O_3$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Insolúvel em água, solúvel em álcool etílico e ligeiramente solúvel em óleos vegetais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 149 ºC a 153 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +39 a +44. Determinar em solução a 20,0 mg/mL em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cipionato de estradiol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,010% (p/v) em álcool etílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de cipionato de estradiol SQR, preparado de maneira idêntica. As absorvâncias das soluções em 280 nm diferem, no máximo, 3%, quando calculadas em relação à substância dessecada.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,2%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,84 UE/mg de cipionato de estradiol.

DOSEAMENTO

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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de solução aquosa de nitrato de amônio 2,7 g/L e acetonitrila (20:80).

Solução amostra: usar 10 mg da amostra, pesada com exatidão, e preparar solução conforme procedimento descrito em *Solução padrão*.

Solução padrão: transferir 10 mg de cipionato de estradiol SQR, pesados com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com tetraidrofurano e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*.
O desvio padrão relativo das áreas de cinco replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de cipionato de estradiol ($C_{26}H_{36}O_3$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e resistentes a luz.

ROTULAGEM

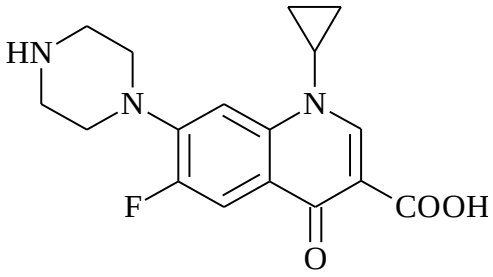
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Estrogênio.

CIPROFLOXACINO

Ciprofloxacinum



$C_{17}H_{18}FN_3O_3$; 331,34
ciprofloxacino; 02137
Ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-l-il)-1,4 dihidroquinoleína-3-carboxílico
[*85721-33-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de ciprofloxacino ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino quase branco a amarelo-claro, ligeiramente higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em ácido acético diluído, muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observadas no espectro de ciprofloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 2,5% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M* é límpida a ligeiramente opalescente **(5.2.25)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o percentual de cada impureza de ciprofloxacino presente. No máximo 0,2% para o análogo ciprofloxacino etilenodiamina ou qualquer outra impureza individual. No máximo 0,5% para impurezas totais.

Limite de ácido fluoroquinolônico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte e mistura de cloreto de metileno, álcool metílico, acetonitrila e hidróxido de amônio (4:4:1:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): transferir 5 mg de ácido fluoroquinolônico para balão volumétrico de 50 mL contendo 0,05 mL de hidróxido de amônio *6 M*, completar o volume com água e homogeneizar

Solução (2): transferir 2 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar

Solução (3): obter solução amostra com concentração de 10 mg/mL de ciprofloxacino em ácido acético 0,1 *M*.

Colocar em uma câmara adequada um recipiente contendo hidróxido de amônio, juntamente com a placa. Após 15 minutos, transferir a placa para a cuba cromatográfica. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha secundária obtida com a *Solução (3)* possui, no máximo, igual intensidade e tamanho em relação à mancha principal obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Sulfato. Preparar *Solução padrão* a 18,1 µg/mL de sulfato de potássio em álcool a 30% (v/v) (10 µg/mL de sulfato). Preparar *Solução amostra* adicionando 0,5 g de ciprofloxacino em 5,0 mL de ácido acético *2 M* e 15 mL de água. Transferir para dois tubos de Nessler 1,5 mL da *Solução padrão*, adicionar, sob agitação contínua, 1 mL de solução de cloreto de bário a 25% (p/v) e aguardar por um minuto. Para um dos tubos, transferir 15 mL da *Solução padrão* e 0,5 mL de ácido acético a 30% (v/v), e agitar. No segundo tubo, adicionar 15 mL da *Solução amostra* e 0,5 mL de ácido acético a 30% (v/v) e agitar. A turbidez no tubo contendo a *Preparação amostra* é, no máximo, igual à apresentada pela *Solução padrão* (0,04%).

Cloretos (5.3.2.1). Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*, exceto que a *Preparação padrão* e a *Preparação amostra* não devem ser diluídas para 50 mL. No máximo 0,02% (200 ppm).

Preparação amostra: dissolver 0,5 g da amostra em 30 mL de água e filtrar em filtro de papel isento de cloro. Transferir 15 mL do filtrado para um tubo de 50 mL.

Preparação padrão: preparar solução a 8,2 µg/mL de cloreto de sódio (5 µg/mL de cloreto). Transferir 10 mL para um segundo tubo de 50 mL, adicionar 5,0 mL de água e agitar.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 120 ºC, sob pressão reduzida, por seis horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%. Quando indicado para a preparação de suspensão oral de ciprofloxacino, no máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de ciprofloxacino.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 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 a 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e ácido fosfórico 0,0125 *M* com pH previamente ajustado para 2,5 ± 0,1 com trietilamina (13:87).

Solução amostra: obter solução a 0,1 mg/mL de ciprofloxacino em *Fase móvel*.

Solução padrão: obter solução de 0,1 mg/mL de ciprofloxacino SQR em *Fase móvel*.

Solução de resolução: preparar solução contendo análogo de ciprofloxacino etilenodiamina SQR a 250 µg/mL em *Fase móvel*. Transferir 1 mL da solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Solução padrão* e homogeneizar.

Injetar 25 µL da *Solução de resolução*. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 2500 pratos teóricos/metro. Os tempos de retenção relativos são de cerca de 0,7 para o análogo de ciprofloxacino etilenodiamina e de 1,0 para ciprofloxacino. O fator de cauda é de, no máximo, 2,5. A resolução entre o pico do análogo de ciprofloxacino etilenodiamina e o pico de ciprofloxacino é de, no mínimo, 5,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao ciprofloxacino. Calcular o teor de ciprofloxacino ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CIPROFLOXACINO SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de ciprofloxacino ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$). Ciprofloxacino solução injetável é uma solução de ciprofloxacino em água para injetáveis, em solução de glicose a 5% (p/v) ou de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), preparada com ácido láctico.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} como suporte, e mistura de cloreto de metileno, álcool metílico, hidróxido de amônio e acetonitrila (4:4:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, previamente saturada por 15 minutos em atmosfera de amônia, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): diluir volume da solução injetável em água de forma a obter solução com concentração de cerca de 0,05% (p/v) de ciprofloxacino.

Solução (2): solução de cloridrato de ciprofloxacino SQR em água na concentração de 0,05% (p/v). Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 366 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2*).

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,5 a 4,6.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de impureza ciprofloxacino etilenodiamina. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento.* Calcular a porcentagem de impureza, a partir do cromatograma obtido com a *Solução amostra,* segundo a expressão:

$$100\ X\ [0{,}7\ Ri\ /\ (0{,}7\ Ri + Rc)]$$

em que
0,7 = fator de resposta entre a impureza e o ciprofloxacino;
Ri = resposta do pico da impureza;
Rc = resposta do pico de ciprofloxacino.

No máximo 0,5%.

Limite de ácido láctico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 208 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina de troca iônica constituída de copolímero de estireno-divinilbenzeno sulfonado na forma hidrogenada (7 µm a 11 µm), mantida a 40 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido sulfúrico 0,0025 *M* e acetonitrila (85:15).

Solução amostra: utilizar a solução injetável não diluída.

Solução padrão: solução a 0,8 mg/mL de lactato de sódio SQR em água.

A eficiência da coluna deve ser de, no mínimo, 5000 pratos teóricos/metro. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade, em miligramas, de ácido láctico ($C_3H_6O_3$) por mililitro da solução injetável, segundo a expressão:

$$\left(\frac{90{,}08}{112{,}07}\right) x\ (C) x\ \left(\frac{R_a}{R_p}\right)$$

em que
90,08 e 112,07 = massas molares do ácido láctico e do lactato de sódio, respectivamente;
C = concentração, em mg/mL, da solução de lactato de sódio SQR;
R_a e R_p = respostas dos picos obtidos com a *Solução amostra* e a *Solução padrão*, respectivamente.

O valor obtido está entre 0,288 mg e 0,352 mg de $C_3H_6O_3$ por mg de ciprofloxacino rotulado.

Limite de glicose. Transferir 50 mL da solução injetável para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 0,2 mL de hidróxido de amônio 6 *M*, completar o volume com água e homogeneizar. Determinar o ângulo de rotação (α), em tubo de 200 mm a 25 ºC **(5.2.8)**. A quantidade, em gramas, de glicose monoidratada ($C_6H_{12}O_6.H_2O$) em 100 mL de solução injetável é calculada segundo a expressão:

$$2\ x\ (1{,}0425\ x\ \alpha)$$

O valor obtido está entre 4,75 e 5,25 g de $C_6H_{12}O_6.H_2O$ por 100 mL de solução injetável.

Limite de cloreto de sódio. Transferir 10 mL da solução injetável para erlenmeyer, diluir com água até aproximadamente 150 mL, adicionar 1,5 mL de cromato de potássio SR e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de cloreto de sódio. O valor obtido está entre 85,5 mg e 94,5 mg.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Usar o *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 1,76 UE/mL de ciprofloxacino.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Diluir a solução injetável, em água, de modo a obter concentração de cerca de 0,0004% (p/v) de ciprofloxacino. Utilizar cloridrato de ciprofloxacino SQR para preparar a solução padrão, utilizando o mesmo solvente. As soluções devem ser mantidas ao abrigo da luz. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 272 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de ciprofloxacino ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$) na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μm a 10 μm), mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,025 *M*, com pH previamente ajustado para 3,0 ± 0,1com trietilamina e acetonitrila (87:13).

Solução amostra: transferir volume da solução injetável equivalente a 25 mg de ciprofloxacino para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 30 mg de cloridrato de ciprofloxacino SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL, utilizando *Fase móvel* como solvente, para obter concentração de 0,25 mg/mL de ciprofloxacino.

Solução de resolução: dissolver em uma porção da *Solução padrão* quantidade da impureza ciprofloxacino etileno-diamina SQR (cloridrato do ácido 1-ciclopropil-6-flúor-1,4-di-hidro-4-oxo-7-2[2-(amino]-3-quinolino carboxílico) para obter solução a 0,25 mg/mL.

A eficiência da coluna deve ser de, no mínimo, 10 000 pratos teóricos/metro. Os tempos de retenção relativos são de cerca de 0,7 para a impureza da *Solução de resolução* e 1,0 para o ciprofloxacino. A resolução entre o pico da impureza e o do ciprofloxacino é de, no mínimo, 6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de ciprofloxacino ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura n° 1, para a manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo, e meio de cultura n° 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Soluções amostra: transferir volume da solução injetável contendo o equivalente a 20 mg de ciprofloxacino para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 2 μg/mL, 4 μg/mL e 8 μg/mL, utilizando *Solução 2 (tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Soluções padrão: pesar, com exatidão, 20 mg de ciprofloxacino SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 2 μg/mL, 4 μg/mL e 8 μg/mL, utilizando *Solução 2 (tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura n° 11 em uma placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Adicionar aos cilindros 0,1 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em μg de ciprofloxacino por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e as *Soluções amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CITALOPRAM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{21}FN_2O$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução a 0,001% (p/v) de citalopram em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em 239 nm, idêntico ao observado no espectro de citalopram SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal da *Solução amostra* obtida no método **B.** de *Doseamento* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de água, álcool butílico e ácido acético (15:12:3) como fase móvel. Preparar a fase móvel com 24 horas de antecedência. Após desprezar a camada orgânica, aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de citalopram para um béquer, adicionar 7 mL de água e submeter a banho de ultrassom à temperatura ambiente por 10 minutos. Adicionar 3 mL do mesmo solvente, agitar e filtrar.

Solução (2): preparar solução a 1 mg/mL de citalopram SQR em água.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar solução com concentração final de 40 µg/mL.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota de 10 mL do meio de dissolução e filtrar em filtro quantitativo. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia *Bromidrato de citalopram*, utilizando as alíquotas filtradas como *Solução amostra*. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{21}FN_2O$ dissolvida no meio, comparando as áreas sob os picos obtidos com a área sob o pico de uma solução de citalopram SQR na concentração de 22 µg/mL, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{20}H_{21}FN_2O$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de citalopram com auxílio de 30 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* para balão volumétrico de 50 mL. Submeter a banho de ultrassom por 10 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração final de 0,001% (p/v). Preparar a solução padrão na mesma concentração utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 239 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{21}FN_2O$ nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia *Bromidrato de citalopram.* Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de citalopram para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de água, com pH ajustado para 1,85 com ácido fosfórico a 10% (p/v). Submeter a banho de ultrassom à temperatura ambiente por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir alíquota de 5 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água com pH ajustado para 1,85 com ácido fosfórico a 10% (p/v) e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{21}FN_2O$, nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CISPLATINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $Cl_2H_6N_2Pt$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra a 0,1% (p/v) em água, há máximo de absorção em 300 nm, idêntico ao observado no espectro de solução de cisplatina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,5 a 6,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de tricloroaminoplatinato. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 209 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupos de amônio quaternário, fortemente básicos, para troca aniônica (10 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo de *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: preparar solução de sulfato de amônio a 0,04% (p/v) em água O pH dessa solução é de 5,8 ± 0,1. Ajustar a força iônica, se necessário, para atender aos requisitos de adequabilidade do sistema. Desgaseificar e filtrar.

Solução (1): diluir a solução injetável, se necessário, em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de modo a obter solução de cisplatina a 0,05% (p/v).

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de tricloroaminoplatinato de potássio SQR em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de modo a obter solução de tricloroaminoplatinato a 0,0015% (p/v).

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução (2)*. A resolução entre o pico de cloreto de sódio e o pico de tricloroaminoplatinato é de, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos obtidos é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* e registrar os cromatogramas. A área sob o pico correspondente ao tricloroaminoplatinato obtida no cromatograma da *Solução (1)* não é maior que a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (2)* (3%).

Limite de transplatina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupos de troca catiônica, fortemente ácidos (10 μm), mantida à temperatura de 45 ºC e fluxo da *Fase móvel* de

2,0 mL/minuto por 30 minutos, de 0,5 mL/minuto por mais 30 minutos e novamente de 2 mL/minuto por 30 minutos.

Fase móvel: preparar solução de fosfato de potássio monobásico a 2,5% (p/v) em água e ajustar o pH para 3,2 com ácido fosfórico. Desgaseificar e filtrar.

Solução (1): solução de transplatina SQR a 0,005% (p/v) em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).

Solução (2): solução de tioureia a 0,5% (p/v) em água.

Solução (3): solução de cisplatina SQR a 0,005% (p/v) em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).

Solução (4): diluir a solução injetável, se necessário, em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), de modo a obter solução de cisplatina a 0,05% (p/v).

Solução (5): transferir 10 mL de *Solução (1)* para um balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 25 mg de cisplatina SQR, pesada com exatidão. Adicionar 25 mL de solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), agitar por 30 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (6): misturar 5 mL da *Solução (2)* com 5 mL de ácido clorídrico *M* e 10 mL da *Solução (4)*. Aquecer a 60 ºC por uma hora e resfriar.

Solução (7): misturar 5 mL de *Solução (2)* com 5 mL de ácido clorídrico *M* e 10 mL da *Solução (5)*. Aquecer a 60 ºC por uma hora e resfriar.

Solução (8): misturar 10 mL da *Solução (1)* com 10 mL da *Solução (3)*. Aquecer a 60 ºC por uma hora e resfriar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (7)* e da *Solução (8)*. A eficiência da coluna, determinada para o pico correspondente à transplatina no cromatograma da *Solução (7)*, é de, no mínimo, 2500 pratos teóricos. Os tempos de retenção para transplatina e cisplatina, obtidos no cromatograma da *Solução (8)*, são de, aproximadamente, cinco minutos e nove minutos, respectivamente. Se necessário, fazer ajustes na composição da *Fase móvel* e re-condicionar a coluna. A resolução entre cisplatina e transplatina, no cromatograma da *Solução (8)*, é de, no mínimo, 1,7. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos obtidos do padrão de transplatina no cromatograma da *Solução (7)* é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (6)* e da *Solução (7)* e registrar os cromatogramas. A área sob o pico correspondente à transplatina obtida no cromatograma da *Solução (6)* não é maior que a área sob o pico de transplatina obtida no cromatograma da *Solução (7)* (2%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 2,0 UE/mg de cisplatina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6

mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupos amino (10 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (90:10). Desgaseificar e filtrar.

Solução (1): diluir, se necessário, a solução injetável em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de modo a obter solução de cisplatina a 0,1% (p/v).

Solução (2): solução de cisplatina SQR a 0,1% (p/v) em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).

Solução (3): solução de cisplatina SQR a 0,05% (p/v) e de transplatina SQR a 0,005% (p/v) em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).

Injetar 10 μL da *Solução (3)*. A resolução entre os picos de cisplatina e transplatina é de, no mínimo, 3,5. Injetar replicatas de 10 μL da *Solução (2)*. O desvio padrão relativo das áreas é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $Cl_2H_6N_2Pt$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução (1)* e a *Solução (2)*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

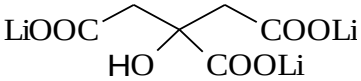
Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz. Não deve ser refrigerado.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CITRATO DE LÍTIO

Lithii citras



$C_6H_5Li_3O_7$; 209,92
citrato de lítio; 09575
Sal de lítio do ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico (3:1)
[*919-16-4*]

$C_6H_5Li_3O_7.4H_2O$; 281,98
citrato de lítio tetraidratado; 11385
Sal de lítio do ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico hidratado (3:1:4)
[*6080-58-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_6H_5Li_3O_7$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon citrato **(5.3.1.1)**.

B. Diluir 3 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* em 10 mL de água. Adicionar 3 mL de periodato férrico de potássio SR. Deve ser formado um precipitado branco ou branco-amarelado.

C. Quando umedecido com ácido clorídrico e submetido à chama não luminosa, desenvolve coloração vermelha.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Pesar 10 g da amostra e dissolver em água isenta de dióxido de carbono. Diluir para 100 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. Não é necessário mais que 0,2 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* ou 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* para promover a viragem do indicador.

Carbonatos. Adicionar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra em 5 mL de ácido acético 6 *M*. É produzida uma leve efervescência.

Oxalatos. Pesar 0,5 g da amostra e dissolver em 4 mL de água, adicionar 3 mL de ácido clorídrico e 1 g de zinco granulado e aquecer em banho-maria por um minuto. Deixar em repouso por dois minutos,transferir o líquido para um tubo de ensaio contendo 0,25 mL de cloridrato de fenilidrazina a 1% (p/v) e aquecer até ebulição. Resfriar rapidamente, transferir para uma proveta e adicionar igual

volume de ácido clorídrico e 0,25 mL de ferricianeto de potássio SR. Agitar e deixar em repouso durante 30 minutos. Nenhuma coloração rosa desenvolvida é mais intensa que a do padrão preparado em paralelo da mesma maneira utilizando 4 mL de ácido oxálico 0,005% (p/v). No máximo 0,03% (300 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Pesar 3,55 g da amostra e adicionar 40 mL de água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo 0,01% (100 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Pesar 2,4 g da amostra e adicionar 40 mL de água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,05% (500 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em 2 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e diluir para 25 mL com água. No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,1 g da amostra, deixando em agitação por 15 minutos antes de iniciar a titulação. A forma tetraidratada deve conter entre 24,0% e 27,0% de água.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 80 mg da amostra, adicionar 50 mL de ácido acético glacial, aquecer até aproximadamente 50 ºC e esfriar. Adicionar 0,25 mL de 1-naftolbenzeína SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até viragem do indicador de amarelo para verde. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 6,997 mg de $C_6H_5Li_3O_7$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

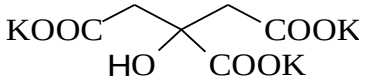
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo

CITRATO DE POTÁSSIO

Kalii citras



$C_6H_5K_3O_7$; 306,39
citrato de potássio; 02181
Sal de potássio do ácido 2-hidroxi-1,2,3- propanotricarboxílico (3:1)
[*866-84-2*]

$C_6H_5K_3O_7.H_2O$; 324,41
citrato de potássio monoidratado; 09373
Sal de potássio do ácido 2-hidroxi-1,2,3- propanotricarboxílico hidratado (3:1:1)
[*6100-05-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_6H_5K_3O_7$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó granuloso, branco, ou cristais incolores.

Solubilidade. Muito solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

B. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon citrato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 10 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Alcalinidade. A solução, de 1 g da amostra em 20 mL de água, é alcalina ao papel de tornassol. Adicionar à solução 0,2 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* e uma gota de fenolftaleína SI. A solução não adquire coloração rosa.

Oxalatos. Dissolver 0,5 g da amostra em 4 mL de água, adicionar 3 mL de ácido clorídrico, 1 g de zinco granulado e aquecer em banho-maria por um minuto. Deixar em repouso por dois minutos, transferir o sobrenadante para tubo contendo 0,25 mL de cloreto de fenilidrazina a 1% (p/v) e aquecer até ebulição. Resfriar rapidamente, transferir para frasco graduado, adicionar o mesmo volume de ácido clorídrico e 0,25 mL de ferricianeto de potássio SR. Homogeneizar e deixar em repouso por 30 minutos. Qualquer coloração rosa produzida não é mais intensa do que a da preparação padrão obtida nas mesmas condições, utilizando 4 mL de ácido oxálico a 0,005% (p/v). No máximo 0,03% (300 ppm).

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Dissolver 1 g da amostra em água e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Preparar a solução padrão utilizando

solução padrão de sódio (200 ppm Na). Diluir se necessário. Medir a intensidade de emissão em 589 nm. No máximo 0,3% (3000 ppm).

Tartarato. Em tubo de ensaio, adicionar 1 g da amostra, 1,5 mL de água e 1 mL de ácido acético 6 *M*. Arranhar a parede do tubo com bastão de vidro. Não ocorre formação de precipitado cristalino.

Cálcio (5.3.2.7). Diluir 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 15 mL com ácido acético diluído e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cálcio*. Preparar a solução padrão utilizando mistura de 5 mL da *Solução padrão de cálcio (10 ppm)* e 10 mL de água. No máximo 0,01% (100 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 7 g da amostra. No máximo 0,005% (50 ppm).

Ferro (5.3.2.1). Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*, não havendo a necessidade de ajustar o pH. No máximo 0,001% (10 ppm).

Substâncias facilmente carbonizáveis. A 0,2 g da amostra pulverizada, adicionar 10 mL de ácido sulfúrico e aquecer em banho-maria a 90 ºC por uma hora. Resfriar rapidamente. A coloração da solução não é mais intensa do que a da mistura de 75 mL da *Solução padrão de cor SC F* **(5.2.12)** e 25 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v) ou a mistura de 15 mL da *Solução padrão de cor SC O* e 85 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 180 ºC por quatro horas. Entre 3% e 6%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, aproximadamente, 0,2 g da amostra, pesada com exatidão, em 25 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando duas gotas de cloreto de metilrosanilínio SI como indicador, até viragem para verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 10,213 mg de $C_6H_5K_3O_7$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

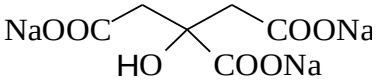
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiurolítico, antiácido.

CITRATO DE SÓDIO

Natrii citras



$C_6H_5Na_3O_7$; 258,07
citrato de sódio; 02182
Sal de sódio do ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico (3:1)
[*68-04-2*]

$C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$; 294,10
citrato de sódio di-hidratado; 02183
Sal de sódio do ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico hidratado (3:1:2)
[*6132-04-3*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_6H_5Na_3O_7$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais brancos.

Solubilidade. A forma hidratada é facilmente solúvel em água e muito solúvel em água ebulição; insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Uma solução 1:20 satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

B. Uma solução 1:20 satisfaz às reações do íon citrato **(5.3.1.1)**.

C. Após incineração, resulta em resíduo alcalino que efervesce quando tratado com ácido clorídrico diluído.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Uma solução de 1 g da amostra em 20 mL de água é alcalina ao papel de tornassol, mas após a adição de 0,2 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*, não se produz cor rosa por uma gota de fenolftaleína SI.

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água. No máximo 0,001% (10 ppm).

Tartarato (5.3.1.1). Dissolver 1 g da amostra em 2 mL de água, adicionar 1 mL de acetato de potássio SR e 1 mL de ácido acético 6 *M*. Atritar a parede do tubo com um bastão de vidro; não se forma precipitado cristalino.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar a 180 ºC por 18 horas. Para a forma anidra, no máximo, 1% e, para a forma hidratada, no máximo entre 10% e 13%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 350 mg da amostra, previamente dessecada, transferir para béquer de 250 mL e dissolver em 100 mL de ácido acético glacial. Agitar até dissolver completamente. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 8,602 mg de $C_6H_5Na_3O_7$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

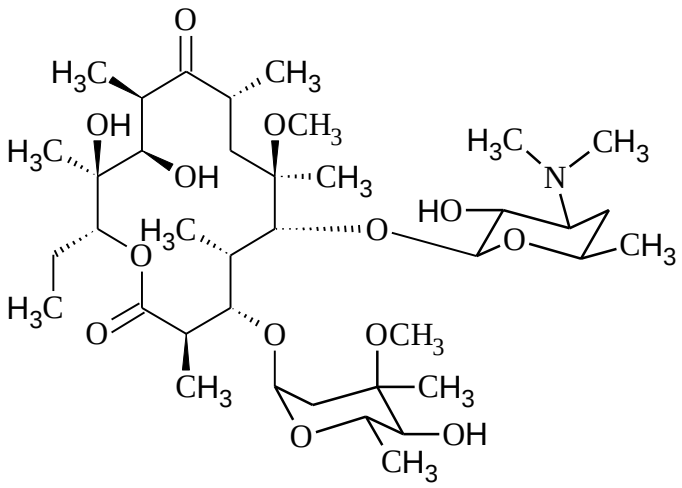
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Alcalinizante sistêmico.

CLARITROMICINA

Clarithromycinum



$C_{38}H_{69}NO_{13}$; 747,95
claritromicina; 02200
6-*O*-Metileritromicina
[*81103-11-9*]

Contém, no mínimo, 960 µg e, no máximo, 1020 µg de claritromicina ($C_{38}H_{69}NO_{13}$), por miligrama em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em acetonitrila e pouco solúvel em álcool etílico absoluto e álcool metílico. Pouco solúvel em tampões fosfato com pH entre 2,0 e 5,0.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: entre -87 e -97, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 1% (p/v) em clorofórmio, a 20 ºC.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 217 ºC a 225 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. O No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de claritromicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 7,5 a 10,0. Determinar em suspensão a 0,2% (p/v) em mistura de água e álcool metílico (19:1).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método II*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. Umedecer a amostra com 2 mL de ácido nítrico e cinco gotas de ácido sulfúrico. No máximo 0,3%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 50 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e fosfato de potássio monobásico 0,067 *M* (65:35). Ajustar o pH para 4,0 utilizando ácido fosfórico, se necessário.

Solução amostra: transferir 50 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL, acrescentar 35 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom por 30 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo solução a 0,2 mg/mL.

Solução padrão: transferir 50 mg de claritromicina SQR para balão volumétrico de 50 mL, acrescentar 35 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom por 30 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo solução a 0,2 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de claritromicina ($C_{38}H_{69}NO_{13}$) por miligrama da amostra a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CLARITROMICINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de claritromicina ($C_{38}H_{69}NO_{13}$). Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para a uniformidade de conteúdo. Proceder conforme descrito em *Doseamento*, utilizando a solução descrita a seguir como *Solução amostra*. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 100 mL de fosfato de potássio monobásico 0,067 *M* (se necessário, ajustar o pH para 4,0 com ácido fosfórico) e aguardar desintegração total do comprimido. Acrescentar 130 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Agitar, mecanicamente, por 30 minutos. Completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Transferir volume equivalente a 5 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão acetato de sódio 0,1 *M* pH 5,0, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em *Fase móvel*, de modo a obter concentração de aproximadamente 0,02% (p/v). Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{38}H_{69}NO_{13}$ dissolvida no meio, a partir da potência da claritromicina SQR e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{38}H_{69}NO_{13}$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 110 ºC, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo 6%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Claritromicina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de claritromicina para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 35 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Agitar, mecanicamente, por 30 minutos. Completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, obtendo solução a 200 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de claritromicina ($C_{38}H_{69}NO_{13}$) nos comprimidos a partir da potência da claritromicina SQR e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

CLARITROMICINA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de claritromicina ($C_{38}H_{69}NO_{13}$). Pode conter agentes dispersantes, diluentes, conservantes e aromatizantes.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar no frasco do diluente.

pH (5.2.19). 4,0 a 5,4. Determinar na suspensão reconstituída conforme indicado no rótulo.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó não reconstituído.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 210 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 a 50 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e fosfato de potássio monobásico 0,067 *M* (60:40). Ajustar o pH para 3,5 com ácido fosfórico, se necessário.

Solução amostra: reconstituir a suspensão como descrito no rótulo do produto. Transferir volume da suspensão equivalente a 0,5 g de claritromicina para balão volumétrico de 250 mL contendo 100 mL de fosfato de potássio monobásico 0,067 *M*. Agitar mecanicamente por 30 minutos. Acrescentar 130 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 60 minutos, agitando regularmente. Esfriar à temperatura ambiente. Completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão estoque: transferir 50 mg de claritromicina SQR para balão volumétrico de 25 mL, acrescentar 20 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom por 30 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar, de modo a obter solução a 2 mg/mL.

Solução padrão: transferir 5 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

A eficiência da coluna, determinada a partir das respostas obtidas para a claritromicina com a *Solução padrão*, é de, no mínimo, 750 pratos teóricos/coluna. O fator de cauda está compreendido entre 1,0 e 1,7 e o fator de retenção está compreendido entre 2,5 e 6,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de claritromicina ($C_{38}H_{69}NO_{13}$) na suspensão oral reconstituída a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

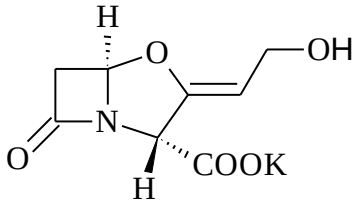
Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLAVULANATO DE POTÁSSIO

Kalii clavulanas



$C_8H_8KNO_5$; 237,25
clavulanato de potássio; 00137
Sal de potássio do ácido (2*R*,3*Z*,5*R*)-3-(2-hidroxietilideno)- 7-oxo-4-oxa-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico (1:1)
[*61177-45-5*]

Contém, no mínimo, 75,5% e, no máximo, 92,0% de ácido clavulânico ($C_8H_8KNO_5$), em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco, higroscópico.

Solubilidade. Muito solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +53 a +63, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 2% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clavulanato de potássio SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,1% (p/v) em tampão fosfato pH 7,0, há máximo de absorção em 278 nm. A absorvância em 278 nm é de aproximadamente 0,40.

C. Satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,5 a 8,0. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 100 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 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Eluente A: dissolver 7,8 g de fosfato de sódio monobásico em 900 mL de água. Ajustar o pH para 4,0 com ácido fosfórico, completar o volume para 1000 mL com água e homogeneizar.

Eluente B: mistura de álcool metílico e *Eluente A* (50:50).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 4	100	0	isocrática
4 – 15	100 → 50	0 → 50	gradiente linear
15 – 18	50	50	isocrática
18 – 24	50 → 100	50 → 0	gradiente linear
24 – 39	100	0	isocrática

Solução (1): solução da amostra a 10 mg/mL, em *Eluente A.*

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Eluente A.*

Solução (3): dissolver 10 mg de clavulanato de lítio SQR e 10 mg de amoxicilina tri-hidratada SQR em *Eluente A*, completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob todos os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* é de, no máximo, o dobro da área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (2,0%) e a área sob nenhum pico é maior que aquela do pico principal obtido com a *Solução (2)* (1,0%). Desconsiderar os picos com área inferior a 0,05 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%). O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar resolução entre os picos de clavulanato e amoxicilina de, no mínimo, 13.

Limite de aminas alifáticas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas; coluna capilar de 50 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com polidifenildimetilsiloxano, com espessura do filme de 5 µm; temperatura da coluna de 35 ºC nos primeiros sete minutos, 35 ºC a 150 ºC de sete minutos a 10,8 minutos, e 150 ºC de 10,8 minutos a 25,8 minutos; temperatura do injetor de 200 ºC; temperatura do detector de 250 ºC; utilizar hélio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 8,0 mL/minuto.

Solução de padrão interno: dissolver 50 µL de 3-metil-2-pentanona em água e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução amostra: transferir 1 g da amostra para tubo de centrífuga e adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno*, 5 mL de hidróxido de sódio 2 *M*, 10 mL de água, 5 mL de álcool isopropílico e 5 g de cloreto de sódio. Agitar vigorosamente durante um minuto e centrifugar para a separação das camadas.

Solução padrão: dissolver 80 mg de cada uma das aminas: 1,1-dimetiletilamina, dietilamina, tetrametiletilenodiamina, 1,1,3,3-tetrametilbutilamina, *N,N'*-di-isopropiletilenodiamina e 2,2'-oxibis(N,Ndimetiletilamina) em ácido clorídrico 2 *M* e diluir para 200 mL com o mesmo solvente. Transferir 5 mL da solução obtida para tubo de centrífuga e adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno*, 10 mL de hidróxido de sódio 2 *M*, 5 mL de álcool isopropílico e 5 g de cloreto de sódio. Agitar vigorosamente durante um minuto e centrifugar para a separação das camadas.

Injetar, separadamente, 1 µL da camada superior da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. O tempo de retenção de 3-metil-2-pentanona é de, aproximadamente, 11,4 minutos. Os tempos de retenção relativos das aminas em relação a 3-metil-2-pentanona são de cerca de 0,55 para 1,1-dimetiletilamina, 0,76 para dietilamina, 1,07 para tetrametiletilenodiamina, 1,13 para 1,1,3,3-tetrametilbutilamina, 1,33 para *N,N'*-di-isopropiletilenodiamina e 1,57 para 2,2'-oxibis(N,N-dimetiletilamina).

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da camada superior da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. No máximo 0,2% de aminas alifáticas.

Água (5.2.20.1). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 1,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril ou quando essa for destinada para a produção de preparações parenterais, a amostra cumpre com os testes.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,03 UE/mg de clavulanato de potássio.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,6 mL/minuto.

Tampão pH 4,4: dissolver 7,8 g de fosfato de sódio monobásico em 900 mL de água. Ajustar o pH para 4,4 ± 0,1 com ácido fosfórico ou hidróxido de sódio 10 *M*, completar o volume para 1000 mL com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 4,4* e álcool metílico (95:5).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 200 mL. Dissolver em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: solução de clavulanato de lítio SQR a 0,25 mg/mL em água.

Solução de resolução: solução contendo clavulanato de lítio SQR a 0,25 mg/mL e amoxicilina tri-hidratada SQR a 0,5 mg/mL em água.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 550 pratos teóricos. Os tempos de retenção relativos são de cerca de 0,5 para ácido clavulânico e 1,0 para amoxicilina. O fator de cauda é de, no máximo, 1,5. A resolução entre ácido clavulânico e amoxicilina é de, no mínimo, 3,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular o teor de ácido clavulânico ($C_8H_9NO_5$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

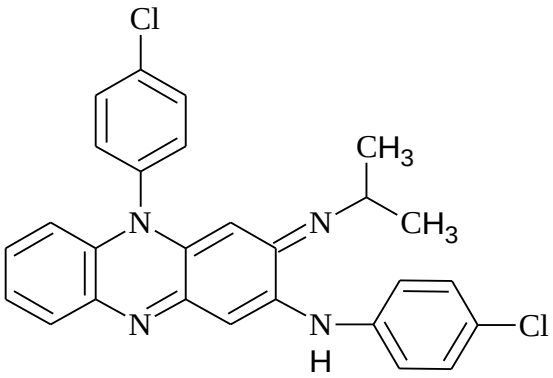
Em recipientes herméticos, protegidos da luz, em temperatura entre 2 ºC e 8 ºC.

CLASSE TERAPÊUTICA

Inibidor de beta-lactamase.

CLOFAZIMINA

Clofaziminum



$C_{27}H_{22}Cl_2N_4$; 473,40
clofazimina; 02268
N,5-Bis(4-clorofenil)-3,5-di-hidro-3-[(1-metiletil)imino]-2-fenazinamina
[*2030-63-9*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino vermelho-escuro.

Solubilidade. Insolúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 217 ºC a 219 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14)** da solução da amostra a 5% (p/v) em cloreto de metileno, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clofazimina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico metanólico 0,1 *M*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de clofazimina SQR, preparado de maneira idêntica.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição e cor àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel HF_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno e *n*-propanol

(10:1), como fase móvel. Expor a placa a vapores de amônia por 30 minutos imediatamente antes do uso, suspendendo a placa numa cuba contendo camada superficial de aproximadamente 25 mL de solução recém-preparada de amônia a 1% (v/v), impedindo que a placa entre em contato com o líquido. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em cloreto de metileno de modo a obter solução a 50 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade de clofazimina SQR, pesada com exatidão, em cloreto de metileno, para obter solução a 0,5 mg/mL.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* em cloreto de metileno de modo a obter solução a 0,25 mg/mL.

Solução (4): diluir a *Solução (2)* em cloreto de metileno de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%). A soma das intensidades das manchas secundárias obtidas no cromatograma com a *Solução (1)* é de, no máximo, 2,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Método IV*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver cerca de 0,3 g da amostra previamente dessecada, pesada com exatidão, em 5 mL de clorofórmio. Aquecer com cuidado, se necessário. Adicionar 20 mL de acetona e 5 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 47,340 mg de $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

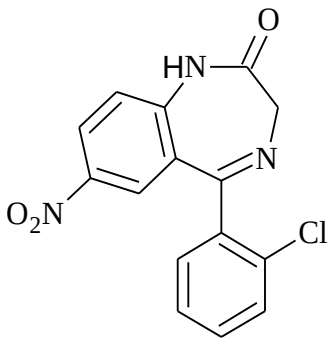
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hansenostático.

CLONAZEPAM

Clonazepamum



$C_{15}H_{10}ClN_3O_3$; 315,71
clonazepam; 02300
5-(2-clorofenil)-1,3-diidro-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona
[1622-61-3]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, levemente amarelado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 237 ºC a 240 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clonazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de 2-bromo-2`-(2-clorobenzoil)-4`nitroacetanilida. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel, como suporte, e mistura de acetona e *n*-heptano (3:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 25 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (2): solução a 0,05 mg/mL de 2-bromo-2`-(2-clorobenzoil) -4`nitroacetanilida (*impureza C* SQR) em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido sulfúrico 2 *M* e secar a placa em estufa a 105 ºC durante 15 minutos. Pulverizar a placa, sucessivamente, com solução de nitrato de sódio 0,01 *M*, solução de sulfamato de amônio 0,1% (p/v) e solução de dicloridrato de *N*-(1-naftil)etilenodiamina SR. Deixar a placa secar ao ar. Qualquer mancha

secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1),* diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Solução tampão pH 8,0: dissolver 6,6 g de fosfato de amônio dibásico anidro em 900 mL de água, ajustar o pH para 8,0 ± 0,1 com ácido fosfórico *M* ou hidróxido de sódio *M*, diluir para 1000 mL com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Solução tampão pH 8,0,* álcool metílico e tetraidrofurano (60:52:13). Filtrar e desgaseificar.

Diluente: mistura de água, álcool metílico e tetraidrofurano (60:52:13).

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Realizar diluição com *Diluente,* a fim de obter solução contendo 0,1 mg/mL.

Solução (2): transferir 10 mg de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A* SQR), 10 mg de 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza* B) e Clonazepam SQR para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2).* Registrar os cromatogramas e medir as áreas de todos os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza na amostra, utilizando a seguinte expressão:

$$100Pr_i / (r_c+\Sigma Pr_i)$$

em que

P = 1,84 (fator de resposta relativo para 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A* SQR)); 0,94 (fator de resposta relativo para 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*)) e 1 para as outras impurezas;
r_i = área sob o pico de cada impureza obtida a partir da *Solução (1);*
r_c = área sob o pico de clonazepam obtido a partir da *Solução (1).*

A área dos picos individuais de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A* SQR) e 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*), obtidos com a *Solução (1),* é de, no máximo, 0,2%. A área de nenhuma impureza individual e nem a soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* é superior a 0,3%. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III.* No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,275 g da amostra previamente dessecada em 50 mL de anidrido acético e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 31,57 mg de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar o método descrito em *Substâncias relacionadas*, com as seguintes modificações.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de clonazepam SQR para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Realizar diluição com *Diluente,* a fim de obter solução a 0,1 mg/mL.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Realizar diluição com *Diluente,* a fim de obter solução a 0,1 mg/mL.

Solução de resolução: transferir 10 mg de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A* SQR), 10 mg de 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) e Clonazepam SQR para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Injetar, separadamente, replicatas de 50 µL da *Solução de resolução e Solução (1).* Os tempos de retenção relativos são de 2,2, 2,5 e 1 para 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A*), 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) e Clonazepam SQR, respectivamente. A resolução entre os picos de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A*) e 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) é de, no mínimo, 2,0. O fator de cauda é de, no máximo, 1,5 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados do cloridrato de clonazepam é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra,* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de clonazepam ($C_{15}H_{10}ClN_3O_3$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Benzodiazepínico.

CLONAZEPAM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de clonazepam para funil de separação de 125 mL. Adicionar 25 mL de água, agitar por dois minutos e extrair com duas porções de 40 mL de clorofórmio. Filtrar os extratos orgânicos utilizando sulfato de sódio anidro, combiná-los e evaporar à temperatura ambiente, com auxílio de fluxo de nitrogênio. Lavar o resíduo com três porções de 10 mL de hexano. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clonazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, álcool metílico e acetonitrila (40:30:30).

Solução amostra: após realização do teste, retirar alíquotas do meio de dissolução.

Solução padrão: dissolver quantidade de clonazepam SQR, pesada com exatidão, em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,05 mg/mL. Diluir, sucessivamente, com meio de dissolução, de modo a obter concentração similar àquela obtida nas cubas de dissolução após o teste.

Procedimento: injetar, separadamente, 100 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIO DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila e tetracloreto de carbono (1:1) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 25 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar, por um minuto, quantidade de pó equivalente a 10 mg de clonazepam em 20 mL de acetona. Filtrar e evaporar até a secura. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de acetona.

Solução (2): preparar solução de 3-amino-4-(2-clorofenil)- 6-nitroquinolin-2(1*H*)-ona SQR a 0,2 mg/mL em acetona.

Solução (3): preparar solução de (2-amino-5-nitrofenil) (2-clorofenil) metanona SQR a 0,2 mg/mL em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar em corrente de ar seco e observar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar a placa com ácido sulfúrico a 10% (v/v) e aquecer a 105 ºC por 15 minutos. Nebulizar com nitrito de sódio a 0,1% (p/v) e secar sob corrente de ar quente. Nebulizar com sulfamato de amônio a 0,5% (p/v) e secar sob corrente de ar quente. Quaisquer manchas obtidas no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, não são mais intensas que aquelas obtidas com a *Solução (2)* (1,0%). Observar a diminuição da intensidade da fluorescência na placa. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com as *Soluções (2)* e *(3).*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Tampão fosfato de amônio: transferir 6,6 g de fosfato de amônio dibásico para balão volumétrico de 1000 mL e acrescentar 950 mL de água. Ajustar o pH para 8,0 com ácido fosfórico 0,33 *M* ou hidróxido de sódio *M*, completar o volume com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato de amônio*, álcool metílico e tetraidrofurano (60:52:13). Filtrar e desgaseificar.

Diluente: mistura de água, álcool metílico e tetraidrofurano (60:52:13).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 5 mg de clonazepam para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver, inicialmente, com 20 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com *Diluente*. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir 10 mg de clonazepam SQR para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver, inicialmente, com 75 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por aproximadamente 15 minutos. Completar o volume com *Diluente* de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, de vidro âmbar e em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLONAZEPAM SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 115% da quantidade declarada de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de tolueno, acetato de etila e ácido fórmico anidro (60:40:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): em tubo de centrífuga, diluir 2 mL da amostra com 10 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Adicionar 1 g de cloreto de sódio e agitar até a dissolução, por aproximadamente dois minutos. Adicionar 5 mL de acetato de etila, agitar três minutos e centrifugar por mais três minutos. Utilizar a fase orgânica.

Solução (2): dissolver 20 mg de clonazepam SQR em 20 mL de acetato de etila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar em corrente de ar seco por 10 minutos e observar sob luz ultravioleta (254 nm). A diminuição da intensidade da fluorescência na placa é observada. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,6 a 4,1. Determinar em solução a 50% (v/v) da amostra em água.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Clonazepam comprimidos*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir para balão volumétrico de 50 mL, volume de solução oral contendo o equivalente a 5 mg de clonazepam de modo a obter solução de 100 µg/mL. Solubilizar, inicialmente, em 20 mL de álcool metílico, levar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com *Diluente.* Homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$ na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

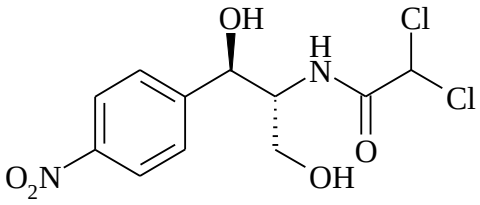
Em recipientes bem fechados, de vidro âmbar e em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORANFENICOL

Chloramphenicolum



$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$; 323,13
cloranfenicol; 02336
2,2-dicloro-*N*-[(1*R*,2*R*)-2-hidroxi-1-(hidroximetil)-2-(4-nitrofenil)etil]acetamida
[*56-75-7*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de cloranfenicol ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$).

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, branco, branco-acinzentado ou branco-amarelado; ou cristais em forma de agulhas ou de placas alongadas. Suas soluções são praticamente neutras em papel de tornassol. Razoavelmente estável em soluções neutras ou moderadamente ácidas. Em soluções etílicas é dextrógiro e em acetato de etila é levógiro.

Solubilidade. Pouco solúvel em água. Facilmente solúvel em álcool etílico e propilenoglicol.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 149 ºC a 153 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +17,0 a +20,0, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 50,0 mg/mL em álcool etílico anidro.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloranfenicol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição e tamanho àquela obtida com a *Solução (1)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Transferir 50 mg da amostra para cadinho de porcelana e adicionar 0,5 g de carbonato de sódio anidro. Aquecer em forno e abrir queima por 10 minutos. Resfriar. Dissolver o resíduo com 5 mL de ácido nítrico e filtrar. Em 1 mL do filtrado, adicionar 1 mL de água. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19) 4,5 a 7,5. Determinar em suspensão aquosa a 25 mg/mL.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de água, álcool metílico e clorofórmio (1:10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 1 µL e 20 µL da *Solução amostra*, 1 µL da *Solução (1)* e 20 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução amostra: solução a 10,0 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cloranfenicol SQR em acetona de modo a obter solução a 10,0 mg/mL.

Solução (2): diluir quantidade ideal da *Solução (1)* com acetona em balão volumétrico de modo a obter solução a 50,0 µg/mL.

Desenvolver o cromatograma por 15 cm. Remover a placa, deixar secar ao ar e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com 20 µL da *Solução amostra*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra por meio de ajuste micrométrico.

Cloretos (5.3.2.1). Adicionar a 1,00 g da amostra, 20 mL de água e 10 mL de ácido nítrico. Agitar por cinco minutos. Filtrar, em filtro previamente lavado com 5 mL de água, até que nenhuma opalescência seja produzida em 5 mL do filtrado com adição de 0,1 mL de ácido nítrico e 0,1 mL de nitrato de prata SR. Um volume de 15 mL do filtrado satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo 0,01% (100 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,00 g da amostra. Dessecar a 105 ºC. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2,00 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Pirogênios ou de Endotoxinas bacterianas, e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre o teste de Pirogênios ou de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração em membrana*. Usar 1 g da amostra.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,2 UE por mg de cloranfenicol.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar 2,5 mL/kg, empregando solução de cloranfenicol a 2 mg/mL em água para injetáveis.

DOSEAMENTO

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 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar mistura de água, álcool metílico e ácido acético glacial (55:45:0,1). Fazer ajustes, se necessário.

Solução amostra: transferir, aproximadamente, 20 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, adicionar *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar. Transferir 4,0 mL desta preparação para balão volumétrico de 100 mL, diluir com *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar uma porção desta preparação em filtro de porosidade 0,5 µm ou menos, e usar o filtrado.

Solução padrão: dissolver quantidade de cloranfenicol SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 80 µg/mL. Filtrar uma porção desta preparação em filtro de porosidade 0,5 µm ou menos e usar o filtrado.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna, determinada com o pico principal, é de, no mínimo, 1800 pratos teóricos; o fator de cauda é de, no máximo, 2,0; e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados de cloranfenicol é de, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de cloranfenicol ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados. Se estéril, armazenar em recipientes estéreis, hermeticamente fechados e lacrados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Quando destinado para uso parenteral ou outras formas farmacêuticas estéreis, o rótulo deve apresentar que é estéril ou deve ser submetido a processamento adicional durante a preparação das formas farmacêuticas.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CLORETO DE AMÔNIO

Ammonii chloridum

NH_4Cl; 53,49
cloreto de amônio; 02362
Cloreto de amônio
[*12125-02-9*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de NH_4Cl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em glicerol, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 0,1% (p/v) da amostra satisfaz às reações do íon amônio **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 0,1% (p/v) da amostra satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 10 g da amostra em água, completar para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 0,05 mL de vermelho de metila SI. Não mais do que 0,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* ou 0,5 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* é necessário para promover a viragem do indicador.

Brometos e iodetos. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico e 0,05 mL de cloramina-T a 2% (p/v). Após um minuto, adicionar 2 mL de clorofórmio e agitar vigorosamente. A fase clorofórmica permanece incolor.

Tiocianato. Acidificar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* com ácido clorídrico e adicionar algumas gotas de cloreto férrico a 9% (p/v). Não se desenvolve coloração vermelho-alaranjada.

Cálcio (5.3.2.7). Diluir 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* com 10 mL de água. No máximo 0,02% (200 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Diluir 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* com 5 mL de água. Utilizar *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe)*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Determinar em 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 8 g da amostra. No máximo 0,015% (150 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra, dissolver em 20 mL de água e adicionar mistura de 20 mL de água e 5 mL de solução de formaldeído, previamente neutralizada em presença de fenolftaleína SI. Após um a dois minutos, titular com hidróxido de sódio *M* SV, utilizando fenolftaleína SI como indicador. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 53,490 mg de NH_4Cl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Acidificante sistêmico.

CLORETO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO

Calcii chloridum dihydricum

$CaCl_2.2H_2O$; 147,01
cloreto de cálcio di-hidratado; 02370
Cloreto de cálcio di-hidratado
[*10035-04-8*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $CaCl_2.2H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco, higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 1 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, completar para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A solução obtida satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

B. Dissolver 1 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, completar para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A solução obtida satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 10 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, completar para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e não é mais corada que a mistura de 5 mL da *Solução padrão de cor SC F* **(5.2.12)** e 95 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, recentemente preparada, adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. Se a preparação adquirir coloração rosa, deve tornar-se incolor pela adição de, no máximo, 0,2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Se nenhuma coloração aparecer, deve tornar-se rosa pela adição de, no máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*.

pH (5.2.19). 4,5 a 9,2. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Bário. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 1 mL de sulfato de cálcio SR. Após 15 minutos, qualquer opalescência observada não é mais intensa do que a mistura de 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e 1 mL de água.

Ferro, alumínio e fosfato. Dissolver 1 g da amostra em 20 mL de água. Adicionar duas gotas de ácido clorídrico 3 *M* e uma gota de fenolftaleína SI. Adicionar, gota a gota, cloreto de amônio-hidróxido de amônio SR, até leve coloração rósea e adicionar duas gotas em excesso. Aquecer à ebulição. Não ocorre turvação ou precipitação.

Magnésio e metais alcalinos. Misturar 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e 80 mL de água. Adicionar 2 g de cloreto de amônio e 2 mL de amônia SR. Aquecer a ebulição e adicionar solução a quente de 5 g de oxalato de amônio em 75 mL de água. Deixar em repouso por quatro horas, completar para 200 mL com água, homogeneizar e filtrar. A 100 mL do filtrado, adicionar 0,5 mL de

ácido sulfúrico. Evaporar a secura em banho-maria e incinerar a 600 ºC até peso constante. O peso do resíduo deve ser de, no máximo, 5 mg.

Alumínio (5.3.2.10). A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 2 mL de cloreto de amônio SR, 1 mL de amônia SR e ferver a preparação. Não ocorre turvação ou precipitação. Se utilizado para a preparação de soluções para diálise, dissolver 4 g da amostra em 100 mL de água. Adicionar 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio*. Utilizar como solução padrão mistura de 2 mL de *Solução padrão de alumínio (2 ppm Al)*, 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 98 mL de água. Para o branco utilizar mistura de 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 100 mL de água. No máximo 0,0001% (1 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,0003% (3 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Utilizar 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Utilizar *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 4 g da amostra. No máximo 0,03% (300 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Preparar a solução padrão utilizando *Solução padrão de chumbo (2 ppm Pb)*. No máximo 0,002% (20 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,28 g da amostra, dissolver em 100 mL de água e proceder conforme descrito em *Titulação complexométrica para cálcio* **(5.3.3.4)**, utilizando 4 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 14,702 mg de $CaCl_2.2H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve indicar se pode ser utilizado na preparação de soluções para diálise.

CLASSE TERAPÊUTICA

Repositor eletrolítico. Pode ser usado como diurético, acidificante urinário e antialérgico.

CLORETO DE CÁLCIO HEXAIDRATADO

Calcii chloridum hexahydricum

$CaCl_2.6H_2O$; 219,07
cloreto de cálcio hexaidratado; 02371
Cloreto de cálcio hexaidratado
[*7774-34-7*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $CaCl_2.6H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais incolores ou massa cristalina incolor.

Solubilidade. Muito solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão **(5.2.2)**: 30 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 15 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A solução obtida satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

B. A solução preparada de maneira idêntica à solução do teste **A.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 15,0 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e apresenta coloração menos intensa que a mistura de 5 mL da *Solução padrão de cor SC F* descrita em *Cor de líquidos* **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, recentemente preparada, adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. Se a preparação adquirir coloração rosa, deve tornar-se incolor pela adição de, no máximo, 0,2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Se nenhuma coloração aparecer, deve tornar-se rosa pela adição de, no máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*.

Alumínio. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 2 mL de cloreto de amônio SR, 1 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e ferver a preparação; não ocorre turvação ou precipitação. Se utilizado para a preparação de soluções para diálise, dissolver 6 g da amostra em 100 mL de água, adicionar 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e proceder conforme descrito em *Ensaio limite pata alumínio*. Utilizar como solução padrão mistura de 2 mL de *Solução padrão de alumínio (2 ppm)*, 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 98 mL de água. Para o branco, utilizar mistura de 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 100 mL de água. No máximo 0,0001% (1 ppm).

Bário. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 1 mL de sulfato de cálcio SR. Após 15 minutos, qualquer opalescência observada não é mais intensa do que a mistura de 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e 1 mL de água.

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 6 g da amostra e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Preparar a solução padrão utilizando *Solução padrão de chumbo (10 ppm)*. No máximo 0,002% (20 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra, dissolver em 100 mL de água e proceder conforme descrito em *Titulação complexométrica para cálcio* **(5.3.3.4)**, utilizando 4 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 21,908 mg de $CaCl_2.6H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

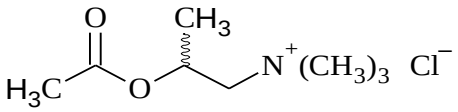
Observar a legislação vigente. O rótulo deve indicar se pode ser utilizado na preparação de soluções para diálise.

CLASSE TERAPÊUTICA

Repositor eletrolítico. Pode ser usado como diurético, acidificante urinário e antialérgico.

CLORETO DE METACOLINA

Methacholini chloridum



$C_8H_{18}ClNO_2$; 195,69
cloreto de metacolina; 02401
Cloreto de 2-(acetiloxi)-*N*,*N*,*N*-trimetil-1-propanamínio (1:1)
[*62-51-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_8H_{18}ClNO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais brancos ou incolores; muito higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: transferir 0,1 g da amostra para um béquer de vidro e dissolver em 3 mL de clorofórmio. Aquecer a 110 ºC por uma hora. Determinar a faixa de fusão no pó aderido às paredes do béquer. Entre 170 ºC e 173 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloreto de metacolina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Preparar uma solução a 2% (p/v) da amostra. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Cloreto de acetilcolina. Dissolver 10 mg da amostra em 100 mL de água. A 2 mL dessa solução, adicionar 3 mL de solução de perclorato de sódio a 20% (p/v), agitar e colocar sob banho de gelo por cinco minutos. Não ocorre formação de precipitado.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 1,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra, previamente dessecada, e dissolver em uma mistura de ácido acético glacial e acetato de mercúrio SR (50:10). Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador, até coloração verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 19,569 mg de $C_8H_{18}ClNO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Colinérgico.

CLORETO DE SÓDIO

Natrii chloridum

NaCl; 58,44
cloreto de sódio; 02421
Cloreto de sódio
[*7647-14-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de NaCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, cristalino branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 20% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. No máximo 0,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* ou de hidróxido de sódio 0,01 *M* é gasto para neutralizar 20 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*, utilizando azul de bromotimol SI como indicador.

Bário. Adicionar a 5 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*, 5 mL de água e 1 mL de ácido sulfúrico *M*. Após 15 minutos, qualquer opalescência observada não é mais intensa que a mistura de 5 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação* e 7 mL de água.

Brometos. Adicionar a 1,0 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*, 4 mL de água, 2 mL de vermelho de fenol SR e 1 mL de cloramina-T a 0,01% (p/v), recentemente preparada. Homogeneizar e deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 0,15 mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M*, homogeneizar, completar o volume para 10 mL com água e homogeneizar. A absorvância desta solução **(5.2.14)**, em 590 nm, utilizando água para ajuste do zero, não é maior que a da solução padrão, preparada da mesma maneira, utilizando 2,5 mL de brometo de potássio a 3 µg/mL. No máximo 0,01% (100 ppm).

Ferrocianetos. Dissolver 2 g da amostra em 6 mL de água. Adicionar 0,5 mL da mistura de 5 mL de sulfato ferroso amoniacal a 1% (p/v) em solução de ácido sulfúrico 0,05 *M* e 95 mL de sulfato ferroso heptaidratado a 1% (p/v). Não se desenvolve coloração azul.

Iodetos. Umedecer 5 g da amostra pela adição, gota a gota, de mistura recém-preparada de 0,15 mL de nitrito de sódio SR, 2 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*, 25 mL de amido SI e 25 mL de água. Após cinco minutos, não se desenvolve coloração azul.

Nitritos. Adicionar 10 mL de água a 10 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*. Medir a absorvância **(5.2.14)** da preparação a 354 nm. A absorvância é de, no máximo, 0,01.

Potássio. *Exigido para cloreto de sódio destinado à preparação de soluções para uso parenteral ou soluções para hemodiálise.* Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: dissolver 1 g da amostra em água e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cloreto de potássio, previamente dessecado entre 100 ºC e 105 ºC, por três horas, para obter solução a 0,1144% (p/v) em água. Diluir se necessário.

Medir a intensidade de emissão a 766,5 nm. No máximo 0,05% (500 ppm).

Alumínio (5.3.2.10). *Exigido para cloreto de sódio destinado à preparação de soluções para hemodiálise.* Dissolver 20 g da amostra em 100 mL de água e adicionar 10 mL de tampão acetato pH 6,0. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio.* Utilizar mistura de 2 mL da *Solução padrão de alumínio (2 ppm)*, 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 98 mL de água como solução padrão. Utilizar mistura de 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 100 mL de água como branco. No máximo 0,00002% (0,2 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar 15 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,0001% (1 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar 25 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Fosfatos (5.3.2.11). Utilizar 2 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação* e diluir com água para 100 mL. No máximo 0,0025% (25 ppm).

Magnésio e metais alcalino terrosos (5.3.2.9). Utilizar 10 g da amostra. O volume de edetato dissódico 0,01 *M* SV utilizado é de, no máximo, 2,5 mL. No máximo 0,01% (100 ppm), calculados como cálcio.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Determinar em 20 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,0005% (5 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Utilizar 6 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,025% (250 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra em água e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de NaCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Repositor eletrolítico.

CLORETO DE SÓDIO SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de NaCl. A solução não contém agentes antimicrobianos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método III*. Diluir 5 mL da solução injetável para 45 mL com água e adicionar 2 mL de ácido clorídrico. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Transferir volume da solução injetável equivalente a 2 g de cloreto de sódio para recipiente adequado, se necessário evaporar para volume de 20 mL. Adicionar 2 mL de ácido acético *M*, completar o volume para 25 mL com água e homogeneizar. Prosseguir conforme descrito no *Método I*, utilizando 2 mL da *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)* em *Preparação padrão* e em *Preparação controle*. No máximo 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mL, se a quantidade declarada de cloreto de sódio for entre 0,5% e 0,9%, e no máximo 3,6 UE/mL, se a quantidade declarada de cloreto de sódio for entre 3,0% e 24,3%.

DOSEAMENTO

Transferir volume da solução injetável contendo o equivalente a 90 mg de cloreto de sódio para erlenmeyer. Adicionar água, se necessário, para obter volume de 10 mL. Adicionar 10 mL de ácido acético glacial e 75 mL de álcool metílico. Titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final utilizando eosina Y SI como indicador, até o aparecimento de coloração rosa. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de NaCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes de plástico ou vidro preferencialmente tipo I ou tipo II.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORETO DE ZINCO
Zinci chloridum

$ZnCl_2$; 136,32
cloreto de zinco; 02433
Cloreto de zinco
[*7646-85-7*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 100,5% de $ZnCl_2$.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino, branco ou quase branco. Temperatura de fusão **(5.2.2)**: em torno de 318 ºC.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico e glicerol.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,5 g da amostra em ácido nítrico SR e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

B. A 2 g da amostra adicionar 38 mL de água isenta de dióxido de carbono. Gotejar ácido clorídrico SR até a solubilização completa e diluir para 40 mL com água isenta de dióxido de carbono. Satisfaz às reações do íon zinco **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,6 a 5,5. Determinar em solução contendo 1 g da amostra em 9 mL de água isenta de dióxido de carbono.

Alumínio, cálcio, metais pesados, ferro, magnésio. A 8 mL da solução obtida no teste **B.** de *Identificação* adicionar 2 mL de solução concentrada de amônia e homogeneizar. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**. Adicionar 1 mL de fosfato de sódio dibásico dodecaidratado SR. A preparação permanece límpida por, no mínimo, cinco minutos. Adicionar 0,2 mL de sulfeto de sódio SR. Produz-se precipitado branco. O sobrenadante permanece incolor.

Amônia (5.3.2.6). Utilizar 25 mg. No máximo 0,04% (400 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 0,8 g da amostra em 10 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo 0,03% (300 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,25 g da amostra em 5 mL de ácido acético diluído. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para *Zinco*. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 13,632 mg de $ZnCl_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos bem fechados.

ROTULAGEM

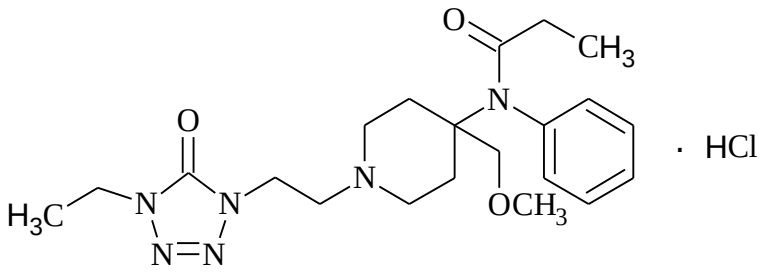
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento nutricional.

CLORIDRATO DE ALFENTANILA

Alfentanili hydrochloridum



$C_{21}H_{32}N_6O_3$.HCl; 452,98
cloridrato de alfentanila; 00535
Cloridrato de *N*-[1-[2-(4-etil-4,5-diidro-5-oxo-1*H*-tetrazol-1-il)etil]-4-(metóximetil)piperidina-4-il]-*N*-fenilpropanamida.
[*69049-06-5*]

$C_{21}H_{32}N_6O_3$.HCl.H_2O; 470,99
cloridrato de alfentanila monoidratado; 09638
[*70879-28-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{21}H_{32}N_6O_3$.HCl, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 136 ºC a 146 ºC, com decomposição. A forma hidratada apresenta faixa de fusão de 116 ºC a 126 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)**, da amostra dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de alfentanila SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 50 mg da amostra em uma mistura de 0,4 mL de amônia e 2 mL de água. Agitar, deixar decantar por cinco minutos e filtrar. Acidificar o filtrado com ácido nítrico SR. Satisfaz à reação 1 dos cloretos **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 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 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de sulfato de tetrabutilamônio 0,01 *M* e acetonitrila (86:14).

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de alfentanila SQR em *Fase móvel* de modo a obter concentração final de 0,54 mg/mL.

Solução amostra: transferir cerca de 54 mg de cloridrato de alfentanila, pesado com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL, dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar o cromatograma e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza da amostra segundo a expressão:

$$Porcentagem\ de\ impurezas\ = 100 \times (r_i/r_s)$$

em que r_i é a resposta para cada impureza e r_s é a soma das respostas de todos os picos. No máximo, 0,5% de qualquer impureza é encontrada. A soma de todas as impurezas é de, no máximo, 1,0%.

Água (5.2.20.1). Utilizar *Método direto.* Determinar em 500 mg da amostra. No máximo 4,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 18,38 UE/mg de cloridrato de alfentanila.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 350 mg de cloridrato de alfentanila, dissolver em 50 mL de uma mistura de álcool etílico e água (1:4) e adicionar 5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Ler o volume adicionado entre os dois pontos de inflexão. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias.
Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 45,30 mg de $C_{21}H_{32}N_6O_3$.HCl.
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

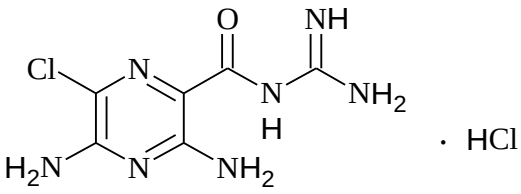
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico opióide.

CLORIDRATO DE AMILORIDA

Amiloridi hidrochloridum



$C_6H_8ClN_7O.HCl$; 266,09
cloridrato de amilorida; 00672
Cloridrato de 3,5-Diamino-N-carbamimidoil-6-cloropirazina-2-carboxamida
[*2016-88-8*]

$C_6H_8ClN_7O.HCl.2H_2O$; 302,12
cloridrato de amilorida di-hidratado; 10890
Cloridrato de 3,5-Diamino-N-carbamimidoil-6-cloropirazina-2-carboxamida di-hidratado
[*17440-83-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_8ClN_7O.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração amarelo-claro ou amarelo-esverdeado.

Solubilidade. Pouco solúvel em água. Facilmente solúvel em dimetilsulfóxido. Pouco solúvel em isopropanol e álcool etílico absoluto.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **C.** O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de amilorida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel R, como suporte, e mistura de amônia SR, água e dioxano (6:6:88), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 40 mg da amostra em álcool metílico, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): dissolver 40 mg de cloridrato de amilorida SQR em álcool metílico, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). A mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver 1,0 g da amostra em 100 mL de uma mistura de álcool metílico e água (1:1), titular com hidróxido de sódio 0,1 *M*, determinando o ponto final potenciometricamente. No máximo 0,3 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* deve ser gasto.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de hidróxido de tetrametilamônio, acetonitrila e água (5:250:745), ajustar o pH para 7,0 com ácido fosfórico.

Solução (1): dissolver cerca de 20 mg da amostra, pesada com exatidão, em 10 mL de uma mistura de acetonitrila e água (1:3).

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, diluir com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 10 mL, diluir com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (4): dissolver cerca de 5 mg de amilorida impureza **A** SQR, pesada com exatidão, em 5 mL de uma mistura de acetonitrila e água (1:3). Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, diluir com o mesmo solvente e homogeneizar.

Se necessário, ajustar a proporção de acetonitrila na *Fase móvel* para que o tempo de retenção da impureza **A** esteja entre cinco e seis minutos. Se necessário, ajustar a proporção de hidróxido de tetrametilamônio, mantendo o pH 7,0, para que o tempo de retenção da amilorida esteja entre nove e 12 minutos.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL das *Soluções (1), (3)* e *(4)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, cinco vezes o tempo de retenção da amilorida.

Sensibilidade do sistema: relação sinal ruído de, no mínimo, 5,0 para o pico da amilorida obtido com a *Solução (3).*

Impurezas inespecíficas: para cada pico de impureza obtido com a *Solução (1)*, a área é de, no máximo, 0,2 vezes a área sob o pico da impureza **A** obtido com a *Solução (4)* (0,1%).

Impurezas totais: o somatório das áreas sob os picos de impurezas obtidos com a *Solução (1)* é de, no máximo, a área sob o pico da impureza **A** obtido com a *Solução (4)* (0,5%).

Desconsiderar: picos de impurezas com áreas inferiores a 0,1 vezes a área sob o pico da impureza **A** obtido com a *Solução (4)* (0,05%).

Água (5.2.20.1). 11,0% a 13,0% para a forma di-hidratada.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver cerca de 0,2 g da amostra, pesada com exatidão, em 50 mL de álcool etílico. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 26,61 mg de $C_6H_8ClN_7O.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

CLORIDRATO DE AMILORIDA E HIDROCLOROTIAZIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de cloridrato de amilorida ($C_6H_8ClN_7O.HCl$) e de hidroclorotiazida ($C_7H_8ClN_3O_4S_2$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de hidroclorotiazida para béquer e dissolver em 50 mL de acetona. Filtrar e evaporar o filtrado até secura. Secar o resíduo a 105 ºC por uma hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo seco, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de hidroclorotiazida SQR.

B. O tempo de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com *Meio de dissolução*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 363 nm para o cloridrato de amilorida e em 270 nm para a hidroclorotiazida **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_8ClN_7O.HCl$ e de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ dissolvidas no meio, comparando as leituras obtidas com as das soluções de cloridrato de amilorida SQR e hidroclorotiazida SQR de concentrações conhecidas preparadas no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_6H_8ClN_7O.HCl$ e 75% (Q) da quantidade declarada de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de metil 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboxilato. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura

de dioxano e hidróxido de amônio 3 *M* (90:12), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): pulverizar os comprimidos e dissolver quantidade do pó equivalente a 17,5 mg de cloridrato de amilorida anidra em 10 mL de álcool metílico e centrifugar.

Solução (2): dissolver 1 mg de metil 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboxilato SQR em álcool metílico e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Qualquer mancha correspondente ao metil 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboxilato obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)*.

Limite de 4-amino-6-cloro-1,3-benzenodissulfonamida. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução teste* como descrito a seguir.

Solução teste: dissolver 1 mg de 4-amino-6-cloro-1,3- benzenodissulfonamida SQR na fase móvel e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução teste* e 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico relativo a 4-amino- 6-cloro-1,3-benzenodissulfonamida obtido com a *Solução amostra*, não é superior à área sob o pico principal obtido com a *Solução teste*. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 286 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato: dissolver 136 g de fosfato de potássio monobásico em 800 mL de água, ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico e completar o volume para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de água, álcool metílico e *Tampão fosfato* (71:25:4).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 5 mg de cloridrato de amilorida para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 15 mL de álcool metílico e 2 mL de ácido clorídrico *M*. Deixar em banho de ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver 20 mg de cloridrato de amilorida SQR em álcool metílico e diluir para 20 mL com o mesmo solvente. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL contendo, exatamente, cerca de 100 mg de hidroclorotiazida SQR e 20 mL de álcool metílico. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico *M*, completar o volume com água e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da S*olução padrão*. Os tempos de retenção relativos são de cerca de 0,7 para a hidroclorotiazida e 1 para o cloridrato de amilorida. A resolução entre os picos de hidroclorotiazida e amilorida deve ser de, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cloridrato de amilorida ($C_6H_8ClN_7O.HCl$) e hidroclorotiazida ($C_7H_8ClN_3O_4S_2$) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

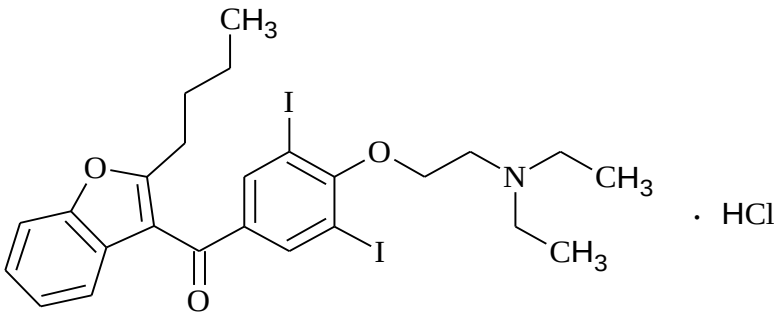
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE AMIODARONA

Amiodaroni hydrochloridum



$C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl; 681,77
cloridrato de amiodarona; 00700
Cloridrato de (2-butil-3-benzofuranil)-[4-[2-(dietilamino) etoxi]-3,5-diiodofenil]-metanona (1:1)
[*19774-82-4*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 159 ºC a 163 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de amiodarona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,002% (p/v) em álcool metílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de cloridrato de amiodarona SQR, preparado de maneira idêntica.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 5% (p/v) em álcool metílico é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 3,2 a 3,8. Determinar em solução preparada como descrito a seguir. Dissolver 1,25 g da amostra em água aquecida a 80 ºC. Resfriar, completar o volume para 25 mL com água e homogeneizar.

Absorção de luz. A absorvância da solução a 0,002% (p/v) em álcool metílico, medida em 242 nm, está compreendida entre 1,03 e 1,05.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido fórmico, álcool metílico e cloreto de metileno (5:10:85), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas e mantidas ao abrigo da luz direta, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 1 g da amostra em cloreto de metileno, completar para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar, obtendo solução a 100 mg/mL.

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução (1)* para 10 mL com cloreto de metileno, obtendo solução a 5 mg/mL.

Solução (3): dissolver 25 mg de cloridrato de amiodarona SQR em cloreto de metileno, completar para 5 mL com o mesmo solvente e homogeneizar, obtendo solução a 5 mg/mL.

Solução (4): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 10 mL com cloreto de metileno, obtendo solução a 0,5 mg/mL.

Solução (5): diluir 5 mL da *Solução (4)* para 10 mL com cloreto de metileno, obtendo solução a 0,25 mg/mL.

Solução (6): dissolver 10 mg de cloridrato de (2-cloroetil) dietilamina em 50 mL de cloreto de metileno. Diluir 1 mL para 10 mL com cloreto de metileno, obtendo solução a 0,02 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (4)* (0,5%), e no máximo uma mancha é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (5)* (0,25%). Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio SR, em seguida com peróxido de hidrogênio a 3% (p/v) e examinar imediatamente. Qualquer mancha correspondente ao cloridrato de (2-cloroetil)dietilamina obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (6)* (0,02%).

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas; coluna de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, com fase estacionária de 35% de difenilpolissiloxano (0,25 µm de espessura); coluna operada com a seguinte programação: 40 ºC, rampa de 40 ºC a 200 ºC com taxa de aquecimento de 15 ºC por minuto. Manter as temperaturas do injetor e do detector a 250 ºC, respectivamente; utilizar hidrogênio como gás de arraste, com pressão de 85 kPa na cabeça da coluna.

Solução (1): transferir 0,3 g da amostra e 5 mL de dimetilsulfóxido para frasco de amostragem tipo *headspace* de 10 mL contendo 1 g de sulfato de sódio anidro.

Solução (2): pesar 1 g de cloreto de metileno e diluir a 0,02% (p/v) (200 ppm) com dimetilsulfóxido. Transferir 5 mL desta solução para frasco de amostragem tipo *headspace* contendo 1 g de sulfato de sódio anidro.

Solução (3): pesar 1 g de tolueno e diluir a 0,02% (p/v) com dimetilsulfóxido. Transferir 5 mL desta solução para frasco de amostragem tipo *headspace* contendo 1 g de sulfato de sódio anidro.

Tampar os frascos de amostragem tipo *headspace* com tampa de politetrafluoretileno e lacre de alumínio. Aquecer as amostras a 80 ºC por 60 minutos.

Procedimento: injetar 1 μL da fase vapor de cada solução, registrar as áreas de cada pico. O tempo de retenção do tolueno é de aproximadamente 2,5 minutos; a resolução entre os picos de cloreto de metileno e de tolueno é de, no mínimo, 2; o desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados, para ambos solventes, é de, no máximo, 15%. As áreas relativas ao cloreto de metileno e tolueno na *Solução (1)* não são superiores às áreas para os padrões de cloreto de metileno da *Solução (2)* e tolueno da *Solução (3)*.

Iodetos. Preparar, simultaneamente, as soluções descritas a seguir.

Solução (1): adicionar 1,5 g da amostra a 40 mL de água aquecida a 80 ºC e agitar até completa dissolução. Esfriar à temperatura ambiente e diluir para 50 mL com água.

Solução (2): a 15 mL da *Solução (1)*, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, 1 mL de iodato de potássio 0,05 *M* e diluir para 25 mL com água. Deixar em repouso, ao abrigo da luz, por quatro horas.

Solução (3): a 15 mL da *Solução (1)*, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, 1 mL de iodeto de potássio a 0,00882% (p/v), 1 mL de iodato de potássio 0,05 *M* e diluir para 25 mL com água. Deixar em repouso, ao abrigo da luz, por quatro horas.

Medir as absorvâncias da *Solução (2)* e da *Solução (3)* em 420 nm (5.2.14), utilizando, para o ajuste do zero, mistura de 15 mL da *Solução (1)* e 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, diluída para 25 mL com água. A absorvância da *Solução (2)* não é maior que a metade da absorvância da *Solução (3)*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar, sob pentóxido de fósforo, em estufa a 50 ºC, sob pressão reduzida, não superior a 0,3 kPa, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver cerca de 0,5 g da amostra, pesada com exatidão, em 40 mL de ácido acético glacial. Adicionar 10 mL de acetato mercúrico a 5% (p/v) em ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 68,177 mg de $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra e dissolver em álcool metílico. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,0008% (p/v). Preparar solução de cloridrato de amiodarona SQR na mesma concentração utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 242 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, em temperatura de, no máximo, 30 ºC.

ROTULAGEM

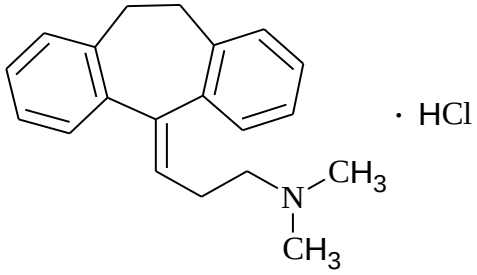
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiarrítmico e antianginoso.

CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA

Amitriptylini hydrochloridum



$C_{20}H_{23}N.HCl$; 313,87
cloridrato de amitriptilina; 00712
Cloridrato de 3-(10,11-di-hidro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*]cicloheptен-5-ilideno)-*N*,*N*-dimetil-1-propanamina (1:1)
[*549-18-8*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{20}H_{23}N.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 195 ºC a 199 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de amitriptilina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14),** na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool metílico, há máximo de absorção em 239 nm, idêntico ao observado no espectro de cloridrato de amitriptilina SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e hidróxido de amônio (135:15:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 40 mg/mL em álcool metílico.

Solução (2): solução de cloridrato de amitriptilina SQR a 0,8 mg/mL em álcool metílico.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* em álcool metílico de modo a obter solução a 0,4 mg/mL.

Solução (4): diluir a *Solução (2)* em álcool metílico de modo a obter solução a 0,2 mg/mL.

Solução (5): diluir a *Solução (2)* em álcool metílico de modo a obter solução a 0,16 mg/mL.

Solução (6): diluir a *Solução (2)* em álcool metílico de modo a obter solução a 0,08 mg/mL.

Solução (7): diluir a *Solução (2)* em álcool metílico até concentração de 0,04 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (4)* (0,5%). A soma das intensidades de todas as manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* corresponde a, no máximo, aquela obtida com a *Solução (3)* (1%). Desconsiderar qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)* que seja menos intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (7)* (0,1%). Desconsiderar quaisquer manchas observadas nos pontos de aplicação das soluções.

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**, utilizando cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna de sílica fundida, de 30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fenil (5%) metil (95%) polisiloxano, e pré-coluna de sílica de 5 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno, desativada com fenilmetilsiloxano. Manter a coluna a 35 ºC por cinco minutos, aumentar para 175 ºC a 8 ºC por minuto, em seguida para 260 ºC a 35 ºC por minuto, e manter por pelo menos 16 minutos. Manter as temperaturas do injetor e do detector a 70 ºC e 260 ºC, respectivamente; utilizar hélio à velocidade linear de 35 cm/s como gás de arraste.

Solução amostra: dissolver, em água isenta de material orgânico, quantidade da amostra, pesada com exatidão, , de modo a obter solução a 20 mg/mL.

Solução padrão: preparar solução, em água isenta de material orgânico, contendo em cada mililitro, 12 µg de cloreto de metileno, 1,2 µg de clorofórmio, 7,6 µg de dioxano e 1,6 µg de tricloroetileno. Preparar no dia do uso.

Injetar replicatas de 1 µL da *Solução padrão*. A resolução entre os picos de quaisquer duas substâncias deve ser de, no mínimo, 1,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 15,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A identidade e a resposta de cada pico presente no cromatograma da *Solução amostra* podem ser relacionadas com a identidade e a resposta das impurezas orgânicas voláteis presentes no cromatograma da *Solução padrão*. A quantidade de cada impureza orgânica volátil presente no cromatograma da *Solução amostra* não excede o limite prescrito na tabela a seguir.

Impureza orgânica volátil	***Limite (ppm)***
clorofórmio	60

dioxano	380
cloreto de metileno	600
tricloroetileno	80

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 1 g da amostra em 30 mL de ácido acético glacial, aquecendo levemente, se necessário, e resfriar. Adicionar 10 mL de acetato de mercúrio SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador, até coloração verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 31,391 mg de $C_{20}H_{23}N.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{23}N.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da *Solução padrão*.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Agitar quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de amitriptilina com 5 mL de água. Filtrar. A solução satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

E. Pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de amitriptilina com 10 mL de clorofórmio. Filtrar e reduzir o volume do filtrado por evaporação. Precipitar adicionando éter etílico até produzir turbidez. Deixar em repouso e filtrar. Dissolver 50 mg do precipitado em 3 mL de água. Adicionar 50 mL de quinidrona a 2,5% (p/v) em álcool metílico. Não se desenvolve coloração vermelha por 15 minutos.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste. No máximo 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada cápsula para balão volumétrico de 50 mL e acrescentar 35 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom por 20 minutos, agitando ocasionalmente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,001% (p/v). Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* a partir de "Preparar solução padrão na mesma concentração...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 239 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{23}N.HCl$ dissolvida no meio,

comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de amitriptilina SQR, na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{20}H_{23}N.HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de dietilamina, acetato de etila e cicloexano (3:15:85), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de amitriptilina para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto. Agitar por 10 minutos. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): transferir 20 mg de cloridrato de amitriptilina SQR para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto e homogeneizar, obtendo solução a 4 mg/mL.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto e homogeneizar, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução (4): transferir 2,5 mL da *Solução (3)* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto e homogeneizar, obtendo solução a 10 µg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que as obtidas com as *Soluções (3)* ou *(4)* (1% e 0,25%). Nebulizar a placa com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR. Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal e corada pelo revelador, não é mais intensa que aquela obtida com a *solução (3)* (1%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de amitriptilina para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 75 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, agitar mecanicamente por 15 minutos e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Determinar as absorvâncias das soluções resultantes em 239 nm,

utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{23}N.HCl$ nas cápsulas, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 2,0 mL/minuto.

Tampão fosfato-trietilamina: transferir 11,04 g de fosfato de sódio monobásico e 3 mL de trietilamina para balão volumétrico de 1000 mL, dissolver em 900 mL de água. Ajustar o pH para 2,5 ± 0,5 com ácido fosfórico, completar o volume com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato-trietilamina* e acetonitrila (58:42).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de amitriptilina para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 35 mL de *Fase móvel*, agitar mecanicamente por 15 minutos e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: transferir 50 mg de cloridrato de amitriptilina SQR para balão volumétrico de 50 mL, diluir em 35 mL de *Fase móvel*, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar, de modo a obter solução de cloridrato de amitriptilina a 0,2 mg/mL.

A eficiência da coluna deve ser de, no mínimo, 800 pratos teóricos. O fator de cauda é de, no máximo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{23}N.HCl$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{23}N.HCl$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de amitriptilina com 5 mL de água. Filtrar. A solução satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

E. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de amitriptilina com 10 mL de clorofórmio. Filtrar e reduzir o volume do filtrado por evaporação. Precipitar adicionando éter etílico até produzir turbidez. Deixar em repouso e filtrar. Dissolver 50 mg do precipitado em 3 mL de água. Adicionar 50 mL de quinidrona a 2,5% (p/v) em álcool metílico. Não se desenvolve coloração vermelha por 15 minutos.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste. No máximo 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 50 mL e acrescentar 35 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom por 20 minutos, agitando ocasionalmente. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,001% (p/v). Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* a partir de "Preparar solução padrão na mesma concentração...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.

Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 239 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{23}N.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de amitriptilina SQR, na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{20}H_{23}N.HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de dietilamina, acetato de etila e cicloexano (3:15:85), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de amitriptilina para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com álcool etílico absoluto. Agitar por 10 minutos. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): transferir 20 mg de cloridrato de amitriptilina SQR para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto e homogeneizar, obtendo solução a 4 mg/mL.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto e homogeneizar, obtendo solução a 40 mg/mL.

Solução (4): transferir 2,5 mL da *Solução (3)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool etílico absoluto, obtendo solução a 10 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que as obtidas com as *Soluções (3)* ou *(4)* (1% e 0,25%). Nebulizar a placa com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR. Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal e corada pelo revelador, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (1%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de amitriptilina para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 75 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, agitar mecanicamente por 15 minutos e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume

com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Determinar as absorvâncias das soluções resultantes em 239 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{23}N.HCl$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de amitriptilina cápsulas*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de amitriptilina para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 35 mL de *Fase móvel*, agitar mecanicamente por 15 minutos e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{23}N.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

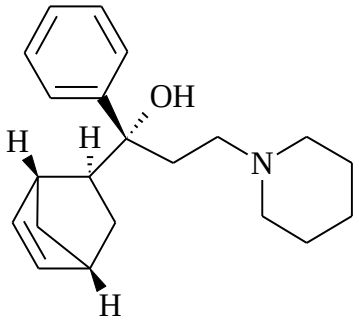
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE BIPERIDENO

Biperideni hydrochloridum



. HCl e enantiômero

$C_{21}H_{29}NO.HCl$; 347,93
cloridrato de biperideno; 01283
Cloridrato de (1RS)-1-[(1RS,2SR,4RS)-biciclo-[2.2.1]hept-5-en-2-il]-1-fenil-3-(piperidin-1-il) propan-1-ol.
[*1235-82-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{21}H_{29}NO.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e álcool.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D.** Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de biperideno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra a 0,1% (p/v) em álcool metílico, há máximo de absorção em 257 nm.

C. Dissolver 0,2 g de amostra em 5 mL de ácido fosfórico. Desenvolve-se coloração verde.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel, como suporte, e mistura de álcool metílico e hidróxido de amônio (100:1,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 10 mg/mL, em álcool metílico.

Solução (2): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,2 mg/mL em álcool metílico.

Solução (3): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,1 mg/mL em álcool metílico.

Solução (4): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,05 mg/mL em álcool metílico.

Solução (5): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,01 mg/mL em álcool metílico.

Procedimento: desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Expor a placa a vapores de iodo por 10 minutos. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, tem intensidade máxima igual à mancha principal obtida com a *Solução (2)*. A soma das impurezas observadas é de, no máximo, 2,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,5 g da amostra em 80 mL de ácido acético glacial, aquecendo um pouco, se necessário, para solubilização. Esfriar. Adicionar uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e 10 mL de acetato de mercúrio SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, até mudança de cor para verde esmeralda. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 34,79 mg de $C_{21}H_{29}NO.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticolinérgico.

CLORIDRATO DE BIPERIDENO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_{21}H_{29}NO.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)** utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool isopropílico e hidróxido de amônio a 25% (v/v) (95:5), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): pulverizar os comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de biperideno, adicionar 5 mL de cloreto de metileno e homogeneizar. Filtrar e lavar o resíduo com 5 mL de cloreto de metileno. Evaporar o filtrado. Dissolver o resíduo com 1 mL de álcool metílico.

Solução (2): solução a 10 mg/mL de cloridrato de biperideno SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Expor a placa por 10 minutos a vapores de iodo em cuba fechada, previamente saturada, tendo ao fundo cristais de iodo. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de biperideno, adicionar 10 mL de água e aquecer por 15 minutos. Filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 M, 500 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Solução padrão: dissolver quantidade de cloridrato de biperideno SQR, pesada com exatidão, em álcool metílico e diluir com o mesmo solvente de modo a obter concentração de cerca de 1,0 mg/mL. Diluir, sucessivamente, com ácido clorídrico 0,01 *M* de modo a obter concentração de 4 µg/mL.

Solução amostra: utilizar alíquotas do meio de dissolução.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{29}NO.HCl$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{21}H_{29}NO.HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 205 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida a 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Tampão fosfato de sódio pH 2,5: dissolver 6,9 g de fosfato de sódio monobásico em 500 mL de água. Adicionar 1,011 g de heptanossulfonato de sódio, completar o volume para 1000 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Se necessário, ajustar o pH para 2,5 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato de sódio pH 2,5* e álcool metílico (50:50).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 2 mg de cloridrato de biperideno para balão volumétrico de 20 mL. Adicionar 10 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 20 minutos. Agitar mecanicamente por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 2 mL da solução anterior para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 10 mg de cloridrato de biperideno SQR e transferir para balão volumétrico de 10 mL. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 0,2 mL desta solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{29}NO.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

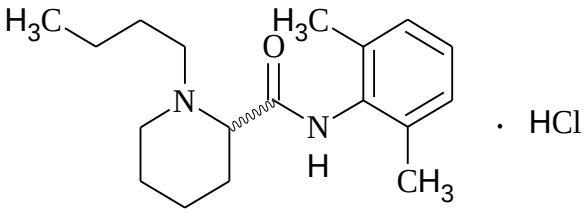
Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE BUPIVACAÍNA

Bupivacaini hydrochloridum



$C_{18}H_{28}N_2O.HCl$; 324,89
cloridrato de bupivacaína; 01552
Cloridrato de (*RS*)-1-butil-2',6'-dimetilpiperidina-2-carboxanilida
[*18010-40-7*]

$C_{18}H_{28}N_2O.HCl.H_2O$; 342,91
cloridrato de bupivacaína monoidratado; 11219
Cloridrato de (*RS*)-1-butil-2',6'-dimetilpiperidina-2-carboxanilida hidratado (1:1)
[*73360-54-0*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão **(5.2.2)**: 254 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de bupivacaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra a 0,05% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em 271 nm.

C. Transferir para um funil de separação, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra e adicionar 10 mL de água, alcalinizar com hidróxido de amônio 6 *M*, e extrair com 10 mL de éter. A fase aquosa satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). Entre 4,5 e 6,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Limite de solvente residual. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas; coluna de 2 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, com fase estacionária contendo copolímero de etilvinilbenzeno e divinilbenzeno, e um diâmetro médio dos poros de 0,0075 μm. Como gás de arraste utilizar nitrogênio, em um fluxo de 40 mL/minuto. Manter a temperatura da coluna em 175 ºC e a do injetor e detector em 200 ºC e 280 ºC, respectivamente.

Solução padrão de álcool etílico: pipetar 2 mL de álcool etílico di-hidratado para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar. A solução contém 0,08% de álcool etílico.

Solução padrão de álcool isopropílico: pipetar 2 mL de álcool isopropílico para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. A solução contém 0,004% de álcool isopropílico.

Solução teste: transferir 1,0 g de cloridrato de bupivacaína, pesado com exatidão, para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Injetar 5 μL da *Solução teste*, da *Solução padrão de álcool etílico* e da *Solução padrão de álcool isopropílico* no cromatógrafo gasoso. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos na *Solução teste*, na *Solução padrão de álcool etílico* e na *Solução padrão de álcool isopropílico*. Determinar o teor de álcool etílico e álcool isopropílico na *Solução teste* a partir das respostas obtidas com as soluções padrões. O somatório do teor de álcool etílico e álcool isopropílico é de, no máximo, 2%.

Água (5.2.20.1). Entre 4,0% e 6,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 2,0 g da amostra. No máximo 0,001% (10 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

Pureza cromatográfica.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel, como suporte, e mistura de clorofórmio e isopropilamina (99:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções descritas a seguir:

Solução (1): dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Diluente* de modo a obter solução a 20 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade de cloridrato de bupivacaína SQR, pesada com exatidão, em *Diluente*, para obter solução a 20 mg/mL.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* em *Diluente* de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Diluente: mistura de clorofórmio e isopropilamina (99:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Expor a placa a vapores de iodo por cinco minutos, remover e nebulizar com ácido sulfúrico 3,5 *M*, até o aparecimento das manchas.

A mancha principal da *Solução (1)* tem o mesmo Rf que a mancha principal da *Solução (2)*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, tem intensidade máxima igual à mancha principal obtida com a *Solução (3)* (0,5%). A soma das impurezas observadas é de, no máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,5 g da amostra em 80 mL de ácido acético glacial, aquecendo um pouco, se necessário, para solubilização. Esfriar. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final utilizando uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e 10 mL de acetato de mercúrio SR até mudança de cor para verde esmeralda. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 32,49 mg de $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz, umidade e luz natural direta.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico.

CLORIDRATO DE BUPIVACAÍNA E GLICOSE SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% das quantidades declaradas de cloridrato de bupivacaína ($C_{18}H_{28}N_2O.HCl$) e glicose ($C_6H_{12}O_6$). A solução injetável pode ser preparada em água para injetáveis ou em outro solvente adequado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)** utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool butílico, água, álcool etílico e ácido acético glacial (6:2:1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa 10 µL da *Solução (1),* da *Solução (2)* e da *Solução (4),* e 1 µL da Solução (1) e da *Solução (3)*, recentemente preparadas, como segue.

Solução (1): solução injetável de cloridrato de bupivacaína e glicose.

Solução (2): solução de cloridrato de bupivacaína SQR em água, na concentração correspondente à da solução injetável.

Solução (3): solução de glicose SQR em água na concentração correspondente à da solução injetável.

Solução (4): solução de cloridrato de bupivacaína SQR utilizando *Solução (3)* como diluente, de modo a obter concentração correspondente à da solução injetável.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e secar ao ar quente circulante. Examinar a placa sob luz ultravioleta (254 nm). A posição da mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde àquela das manchas principais obtidas com a *Solução (2)* e a *Solução (4)*. Nebulizar com reagente naftalenodiol, aquecer a 90 ºC por cinco minutos e examinar a placa. A posição da mancha principal marrom, obtida com *Solução (1)*, corresponde àquela obtida com a *Solução (3)*. Esfriar a placa, nebulizar com reagente iodoplatinado e examinar a placa. A bupivacaína é visualizada como mancha azul-violeta em fundo laranja e a mancha correspondente à glicose desaparece gradativamente.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, no método para determinação de cloridrato de bupivacaína, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,0 a 6,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 2,5 UE/mL.

DOSEAMENTO

Cloridrato de bupivacaína. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 263 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 2,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 6,8: dissolver 1,94 g de fosfato de potássio monobásico e 2,48 g de fosfato de potássio dibásico em 1000 mL de água. Ajustar o pH, se necessário, para 6,8 ± 0,05 com hidróxido de potássio *M* ou ácido fosfórico *M*.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e *Tampão fosfato pH 6,8* (65:35). Ajustar o pH, se necessário, para 7,7 ± 0,02 com ácido fosfórico *M*.

Solução amostra: transferir volume da solução injetável equivalente a 25 mg de cloridrato de bupivacaína para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de cloridrato de bupivacaína SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver em 5 mL de água, com auxilio de banho de ultrassom, se necessário. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Glicose. Medir o ângulo de rotação da amostra, em tubo adequado **(5.2.8)**, utilizando água destilada para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_{12}O_6$, em cada mL da amostra, utilizando a fórmula:

$$\alpha \times 9{,}452 \times A$$

em que α é a leitura média obtida e A é a divisão de 200 pelo comprimento do tubo, em mm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

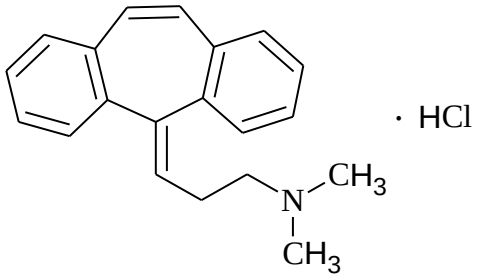
Em recipientes de dose única, preferencialmente em vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE CICLOBENZAPRINA

Cyclobenzaprini hydrochloridum



$C_{20}H_{21}N.HCl$; 311,85
cloridrato de ciclobenzaprina; 02013
Cloridrato de 3-(5*H*-dibenzo[*a*,*d*]ciclohepten-5-ilideno)-*N*,*N*-dimetil-1-propanamina (1:1)
[*6202-23-9*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{20}H_{21}N.HCl$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, álcool etílico e álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool isopropílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 215 ºC a 219 ºC, sendo que a faixa entre o início e o final da fusão não deve exceder 2 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de ciclobenzaprina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetona, tolueno e hidróxido de amônio (75:25:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas descritas a seguir.

Solução (1): solução a 20 mg/mL da amostra em álcool metílico.

Solução (2): solução a 20 mg/mL de cloridrato de ciclobenzaprina SQR em álcool metílico.

Solução (3): diluir 0,1 mL da *Solução (1)* em 20 mL de álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar por 15 minutos e observar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal da *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*, e qualquer outra mancha obtida a partir da *Solução (1) não* excede em tamanho ou intensidade a mancha principal obtida a partir da *Solução (3)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 2 g da amostra. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra em estufa a 105 ºC até peso constante. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra, previamente dessecada. Dissolver em 80 mL de ácido acético glacial e 15 mL de acetato de mercúrio SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 31,185 mg de $C_{20}H_{21}N.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Relaxante muscular.

CLORIDRATO DE CICLOBENZAPRINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{21}N.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de ciclobenzaprina para um béquer de 25 mL, adicionar 10 mL de cloreto de metileno e agitar para dissolver. Filtrar e evaporar até que se obtenha volume de aproximadamente 5 mL do filtrado. Transferir para tubo de centrífuga e adicionar 2 mL de éter etílico. Evaporar por corrente de ar até aproximadamente 1 mL e agitar até ocorrer cristalização. Lavar os cristais com porções de éter etílico e secar à temperatura ambiente. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de ciclobenzaprina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida em *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da S*olução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e, se necessário, diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{21}N.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de ciclobenzaprina SQR em concentração similar à esperada na amostra.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{20}H_{21}N.HCl$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 290 nm; coluna de 100 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 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila, álcool metílico e ácido metanossulfônico (48:28:24:0,2). Ajustar o pH para 3,6 com dietilamina.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de cloridrato de ciclobenzaprina para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Agitar mecanicamente por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 50 µg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cloridrato de ciclobenzaprina SQR, pesada com exatidão, em ácido clorídrico 0,1 *M*, para obter solução a 50 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* A eficiência da coluna é de, no mínimo, 1000 pratos teóricos/metro. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%. O fator de cauda do pico principal é de, no máximo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{21}N.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

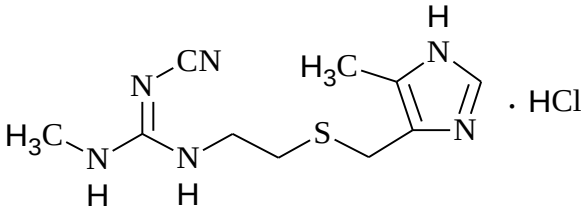
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE CIMETIDINA

Cimetidini hydrochloridum



$C_{10}H_{16}N_6S.HCl$; 288,80
cloridrato de cimetidina; 02074
Cloridrato de *N*-Ciano-*N*'-metil-*N*''-[2-[[(5-metil-1*H*-imidazol-4-il)metil]tio]etil]guanidina
[*70059-30-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{10}H_{16}N_6S.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, levemente amarelado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de cimetidina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, de solução a 0,0014% (p/v) em ácido sulfúrico 0,2 *M*, há máximo de absorção em 218 nm. A absorvância em 218 nm está entre 0,650 e 0,705.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 940 mg de 1-hexanosulfonato de sódio para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 240 mL de álcool metílico, 0,3 mL de ácido fosfórico, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (2): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução de resolução: transferir 50 mg de cloridrato de cimetidina para balão volumétrico de 10 mL e adicionar ácido clorídrico 0,1 *M* para solubilizar. Aquecer em banho-maria a 50 ºC, por dois minutos, e deixar esfriar. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir com *Fase móvel* até obter solução com concentração de 2 µg/mL. Se necessário, o tempo de aquecimento pode ser alterado para obter respostas satisfatórias dos picos de análogos da amida.

Injetar, separadamente, réplicas de 50 µL da *Solução de resolução* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A resolução entre os picos de cimetidina e análogos da amida, obtidos no cromatograma com a *Solução de resolução*, é de, no mínimo, 4. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 2000 pratos teóricos por metro; o fator de retenção é de, no mínimo, 4,0 e o desvio padrão relativo das áreas de réplicas dos picos registrados é de, no máximo, 7,0%, em relação ao cromatograma obtido com a *Solução (2).*

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área individual sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* é de, no máximo, a área sob o pico obtido com a *Solução (2)* (0,2%).A soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* é de, no máximo, cinco vezes a área sob o pico obtido com a *Solução (2)* (1,0%). Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III.* No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de cloridrato de cimetidina.

DOSEAMENTO

Dissolver 0,20 g da amostra, previamente dessecada, em 5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e adicionar 50 mL de álcool etílico. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente, entre os dois pontos de inflexão. Realizar ensaio em branco e fazer as

correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 28,88 mg de $C_{10}H_{16}N_6S.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico H_2.

CLORIDRATO DE CIMETIDINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{16}N_6S$. Cloridrato de cimetidina solução injetável é uma solução estéril de cloridrato de cimetidina em água para injetáveis.

IDENTIFICAÇÃO

A. Diluir a solução injetável, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M*, de modo a obter concentração de 0,0005% (p/v) de cimetidina. Utilizar cloridrato de cimetidina SQR e o mesmo solvente para preparar solução padrão na mesma concentração de cimetidina. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão de cloridrato de cimetidina.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. A solução injetável satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,8 a 6,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de cloridrato de cimetidina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução injetável equivalente a 0,1 g de cimetidina para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente até concentração de 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração e no mesmo solvente, utilizando cloridrato de cimetidina SQR. Medir as absorvâncias das soluções em 221 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{16}N_6S$ na solução injetável a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μm a 10 μm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 200 mL de álcool metílico e 0,3 mL de ácido fosfórico para balão volumétrico de 1000 mL, completar com água, homogeneizar e filtrar.

Solução amostra: transferir volume da solução injetável equivalente a 0,25 g de cloridrato de cimetidina para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cloridrato de cimetidina SQR, pesada com exatidão, em mistura de água e álcool metílico (80:20) para obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 2,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna determinada para o pico do analito é de, no mínimo, 1000 pratos teóricos. O fator de retenção é de, no mínimo, 0,6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é de, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{16}N_6S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

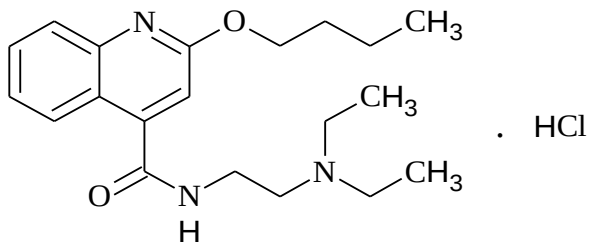
Em recipiente de dose simples de vidro tipo I, à temperatura ambiente e protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE CINCHOCAÍNA

Cinchocaini hydrochloridum



$C_{20}H_{29}N_3O_2$.HCl; 379,92
cloridrato de cinchocaína; 02092
Cloridrato de 2-butoxi-N-(2-dietilaminoetil)quinoleína-4-carboxamida
[*61-12-1*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{20}H_{29}N_3O_2$.HCl, em relação à base dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco, ou cristais incolores, higroscópicos. Aglomera muito facilmente.

Solubilidade. Muito solúvel em água e facilmente solúvel em álcool.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de cinchocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o Método *I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 80 ºC por cinco horas. No máximo 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel, como suporte, e mistura de tolueno, acetona, álcool metílico e hidróxido de amônio (50:30:5:1), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, em clorofórmio, para obter solução a 40 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade de cloridrato de cinchocaína SQR, pesada com exatidão, em clorofórmio para obter solução a 40 mg/mL.

Solução (3): diluir, quantitativamente, porção da *Solução (2)* em clorofórmio, para obter solução a 0,04 mg/mL (0,1%).

Solução (4): diluir, quantitativamente, porção da *Solução (2)* em clorofórmio, para obter solução a 0,12 mg/mL (0,3%).

Solução (5): diluir, quantitativamente, porção da *Solução (2)* em clorofórmio, para obter solução a 0,20 mg/mL (0,5%).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de dicromato de potássio a 0,5% (p/v) em ácido sulfúrico diluído (1:5). Aquecer a 140 ºC durante 10 minutos ou até o aparecimento de manchas e deixar arrefecer. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade, à mancha obtida com a *Solução (2)*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (5)* (0,5%). A soma das quantidades de impurezas deve ser de, no máximo, 1,0%. Comparar as manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* com as manchas obtidas com a *Solução (3)*, a *Solução (4)* e a *Solução (5)* para estimar as quantidades das impurezas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 35,7 UE/mg de cloridrato de cinchocaína.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 327 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão acetato de sódio pH 5,5: dissolver 0,2 g de acetato de sódio em 250 mL de água, adicionar 2 mL de trietilamina, ajustar o pH para 5,5 ± 0,1 com ácido acético, completar o volume para 300 mL com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e *Tampão acetato de sódio pH 5,5* (70:30).

Solução amostra: transferir 25,0 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de cloridrato de cinchocaína SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel* de modo a obter solução a 1,0 mg/mL e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna, medida para o pico do cloridrato de cinchocaína, é de, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é de, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser de, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{29}N_3O_2$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

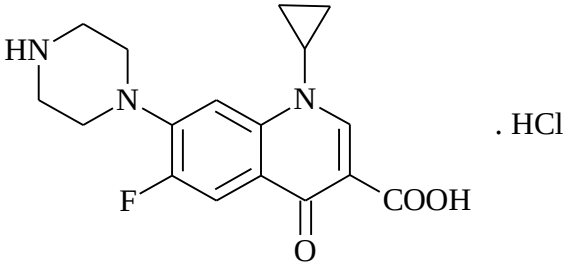
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local.

CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO

Ciprofloxacini hydrochloridum



$C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl; 367,80
cloridrato de ciprofloxacino; 02138
Cloridrato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-l-il)-1,4 dihidroquinolina-3-carboxílico
[*86483-48-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração amarelo-clara, pouco higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água, pouco solúvel em álcool metílico e muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de ciprofloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,0 a 4,5. Determinar em solução aquosa a 25 mg/mL.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. As áreas sob os picos relativos ao análogo ciprofloxacino etilenodiamina ou qualquer outra impureza é, no máximo, 0,2% da área total sob os picos obtidos.

Ácido fluoroquinolônico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno, álcool metílico, acetonitrila e hidróxido de amônio (4:4:1:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): solubilizar 5,0 mg de ácido fluoroquinolônico SQR em 0,05 mL de hidróxido de sódio 6 *M*, completar o volume para 50 mL com água e homogeneizar. Diluir 2,0 mL dessa solução resultante para 10,0 mL com acetonitrila e homogeneizar

Solução (2): obter solução amostra com concentração de 10 mg/mL de cloridrato de ciprofloxacino em uma solução acetonitrila:água (80:20).

Colocar em uma câmara adequada um recipiente contendo hidróxido de amônio, juntamente com a placa. Após 15 minutos, transferir a placa para a cuba cromatográfica. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha da *Solução (2)* com Rf correspondente a mancha principal obtida com a *Solução (1)* é, no máximo, igual em intensidade e tamanho à mancha principal da *Solução (1).*

Água (5.2.20.1). 4,7% a 6,7%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 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 à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e ácido fosfórico 0,0125 *M* com pH previamente ajustado com trietilamina para 2,5 ± 0,1 (13:87).

Solução amostra: obter solução de 0,1 mg/mL de cloridrato de ciprofloxacino em *Fase móvel*.

Solução padrão: obter solução de 0,1 mg/mL de cloridrato de ciprofloxacino SQR em *Fase móvel*.

Solução de resolução: preparar solução contendo ciprofloxacino etilenodiamina SQR a 250 µg/mL em *Fase móvel*. Transferir 1,0 mL da solução para balão volumétrico de 10,0 mL, completar o volume com a *Solução padrão* e homogeneizar.

Injetar 25 µL da *Solução de resolução*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2500 pratos teóricos/metro. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para ciprofloxacino etilenodiamina e 1,0 para ciprofloxacino. O fator cauda é, no máximo, 2,5. A resolução entre o ciprofloxacino etilenodiamina e ciprofloxacino é, no mínimo, 5,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao cloridrato de ciprofloxacino. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO COMPRIMIDOS

Contém no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno, álcool metílico, hidróxido de amônio e acetonitrila (4:4:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,15 g de ciprofloxacino e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Transferir 70 mL de água, agitar por cerca de 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Centrifugar e utilizar porção límpida do sobrenadante.

Solução (2): solução aquosa de cloridrato de ciprofloxacino SQR contendo o equivalente a 0,15% (p/v) de ciprofloxacino.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 336 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2*).

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar imediatamente e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 272 nm **(5.2.14)**, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de ciprofloxacino SQR, contendo o equivalente a 0,0004% (p/v) de ciprofloxacino, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 1,25 g de ciprofloxacino e transferir para balão volumétrico de 500 mL com auxílio de 400 mL de água. Agitar por 30 minutos, completar o volume e filtrar. Diluir, sucessivamente, até a concentração de 0,0004% (p/v), utilizando água como solvente. Preparar solução de cloridrato de ciprofloxacino SQR em água contendo a mesma concentração de ciprofloxacino. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 272 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μm a 10 μm), mantida à temperatura de 30 °C; o fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,025 *M* (pH previamente ajustado com trietilamina para 3,0 ± 0,1) e acetonitrila (85:15).

Solução amostra: transferir cinco comprimidos para balão de 500 mL. Transferir cerca de 400 mL de água e deixar em banho de ultrassom por aproximadamente 20 minutos, completar o volume com água e agitar. Diluir, sucessivamente, até concentração de 0,25 mg/mL de ciprofloxacino, utilizando água como solvente e filtrar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de cloridrato de ciprofloxacino SQR equivalente a 25 mg de ciprofloxacino, transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Diluir sucessivamente em água de modo a obter solução a 0,25 mg/mL de ciprofloxacino.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: Staphylococcus epidermidis ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo e meio de cultura nº 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: transferir cinco comprimidos para balão de 500 mL. Adicionar cerca de 400 mL de água e deixar em banho de ultrassom por aproximadamente 20 minutos, completar o volume com

água, agitar e filtrar. Diluir em água para obter as concentrações de 4 µg/mL, 8 µg/mL e 16 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de ciprofloxacino SQR, transferir para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir em água para obter as concentrações de 4 µg/mL, 8 µg/mL e 16 µg/mL, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura n° 11 em cada placa e esperar solidificar. Juntar 5 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Calcular a potência da amostra, em µg de ciprofloxacino por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO SOLUÇÃO OFTÁLMICA

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de ciprofloxacino ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno, álcool metílico, hidróxido de amônio e acetonitrila (4:4:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 3 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): diluir volume da amostra em água, de modo a obter solução de ciprofloxacino a 0,3% (p/v).

Solução (2): solução aquosa de cloridrato de ciprofloxacino SQR contendo o equivalente a 0,3% (p/v) de ciprofloxacino.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 336 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2*).

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,5 a 5,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar o *Método de filtração por membrana*.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em C*romatografia 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 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm a 10 µm), mantida à temperatura 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato de tetrabutilamônio: preparar solução de fosfato de tetrabutilamônio 0,005 *M*, com pH ajustado previamente com ácido fosfórico para 2,0 ± 0,1.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato de tetrabutilamônio* e álcool metílico (75:25).

Solução amostra: transferir volume da solução oftálmica equivalente a 6 mg de ciprofloxacino para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de cloridrato de ciprofloxacino SQR, solubilizar em água e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,12 mg/mL de ciprofloxacino.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ na solução oftálmica a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: Staphylococcus epidermidis ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo e meio de cultura nº 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: transferir volume da solução oftálmica equivalente a 40 mg de ciprofloxacino para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e agitar. Diluir para obter as concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL e 8 µg/mL, utilizando *Solução 2* (*Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de ciprofloxacino SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluirde modo a obter as concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL e 8 µg/mL de ciprofloxacino, utilizando *Solução 2 (Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0)* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura nº 11 em uma placa, esperar solidificar, juntar 5 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (***5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros 0,1 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da solução oftálmica, em µg de ciprofloxacino por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

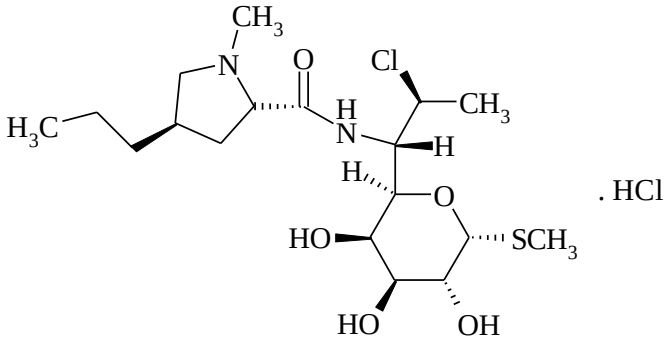
Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE CLINDAMICINA

Clindamycini hydrochloridum



$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$; 461,44
cloridrato de clindamicina; 02230
Cloridrato de metil-7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propil-2-pirrolidinil]carbonil]-amino]-1-tio-L-treo-α-D-galacto-octopiranosídeo
[*21462-39-5*]

Contém, no mínimo, 91,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca. Estável em presença de ar e luz

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +135 a +150, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,04 g/mL em água.

IDENTIFICAÇÃO

*Os ensaios **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os ensaios **A.** e **D.** O ensaio **A.** pode ser omitido se forem realizados os ensaios **B**, **C.** e **D.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de clindamicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1**) utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de isopropanol, acetato de amônio SR e acetato de etila (19:38:43), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 1 mg/mL em álcool metílico.

Solução (2): solução de cloridrato de clindamicina SQR a 1 mg/mL em álcool metílico.

Solução (3): solução de cloridrato de clindamicina SQR e de cloridrato de lincomicina SQR a 1 mg/mL, cada, em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma em 15 cm da placa, deixar secar ao ar. Borrifar uma solução de permanganato de potássio a 0,1% (p/v). Examinar sob luz visível. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar duas manchas principais nitidamente separadas.

C. Solubilizar 10 mg da amostra em 2 mL de ácido clorídrico SR e aquecer em banho-maria por três minutos. Adicionar 3 mL de solução de carbonato de sódio SR em 1 mL de uma solução de nitroprusseto de sódio 20 g/L. Desenvolve-se coloração violeta-avermelhada.

D. Satisfaz às reações para o íon cloreto **(5.3.1.1).** Transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com água.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19) 3,0 a 5,5**.** Determinar em solução a 100 mg/mL, em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento.* Preparar a *Solução teste* conforme descrito a seguir.

Solução teste: utilizar a *Solução amostra* empregada no *Doseamento*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada uma das soluções e registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do pico principal. O tempo de retenção relativo é cerca de 0,4 para a impureza **A**, 0,65 para a impureza **B** e 0,8 para a impureza **C**, tendo como referência o tempo de retenção de 10 minutos para o cloridrato de clindamicina. Para o cromatograma obtido com a *Solução teste*, os limites das impurezas em relação à área sob o pico principal são: no máximo 4,0% de impureza **C** e 2,0% de impureza **B**. No máximo 1,0% para qualquer outro composto. O total de impurezas é de, no máximo, 6,0%.

Água (5.2.20.1). 3,0% a 6,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,5%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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.

Tampão fosfato pH 7,5: pesar 6,8 g de fosfato monobásico de potássio, solubilizar em 950 mL de água. Ajustar o pH a 7,5 com solução de hidróxido de potássio a 25% (p/v) e completar o volume para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 7,5* e acetonitrila (55:45)

Solução amostra: solubilizar quantidade da amostra, pesada com exatidão, em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução padrão: solubilizar quantidade de cloridrato de clindamicina SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 1,0 mg/mL.

Injetar seis replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 0,85%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e mediar as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CLORIDRATO DE CLINDAMICINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110% da quantidade declarada de clindamicina ($C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$).

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método no *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato: solubilizar 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 950 mL de água, ajustar o pH em 7,5 com hidróxido de potássio a 25% (p/v) e diluir para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato* e acetonitrila (55:45). Fazer ajustes, se necessário.

Nota: *a redução da proporção de acetonitrila na Fase móvel aumenta a resolução entre os picos relativos à 7-epiclindamicina e à clindamicina.*

Solução (1): pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 50 mg de clindamicina para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Agitar por 15 minutos. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução de cloridrato de clindamicina SQR a 1 mg/mL em *Fase móvel*.

Solução (3): diluir 2 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Fase móvel*.

Injetar 20 µL da *Solução (2)* e registrar o cromatograma por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do pico principal. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,4 para lincomicina, 0,65 para clindamicina B, 0,8 para 7-epiclindamicina e 1,0 para clindamicina. A resolução entre os picos relativos à clindamicina B e à 7-epiclindamicina é, no mínimo, 2,4. A resolução entre os picos relativos à 7-epiclindamicina e à clindamicina é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)* e *(3)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes do tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. A área de qualquer pico secundário correspondente à clindamicina B no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (2,0%). A área de qualquer pico secundário correspondente à 7-epiclindamicina no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é maior que duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (4,0%). A soma das áreas

de todos os picos secundários obtidos no cromatograma com a S*olução (1)*, exceto o pico principal, não é maior que três vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (6,0%). Não considerar picos relativos ao solvente ou com área inferior a 0,025 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,05%).

Água (5.2.20.1). No máximo 7,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 210 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 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 7,5: pesar 6,8 g de fosfato de potássio monobásico, solubilizar em 950 mL de água. Ajustar o pH a 7,5 com hidróxido de potássio a 25% (p/v) e completar o volume para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 7,5* e acetonitrila (55:45). Fazer ajustes, se necessário.
Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 50 mg de clindamicina para balão volumétrico de 50 mL e completar com *Fase móvel*. Agitar por 15 minutos. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: solubilizar quantidade de cloridrato de clindamicina SQR, pesada com exatidão, em *Fase móvel e diluir adequadamente* de modo a obter solução a 1,0 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do pico principal. A resolução entre os picos relativos à clindamicina B e à 7-epiclindamicina é, no mínimo, 2,4. A resolução entre os picos relativos à 7-epiclindamicina e à clindamicina é, no mínimo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos relativos à clindamicina registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

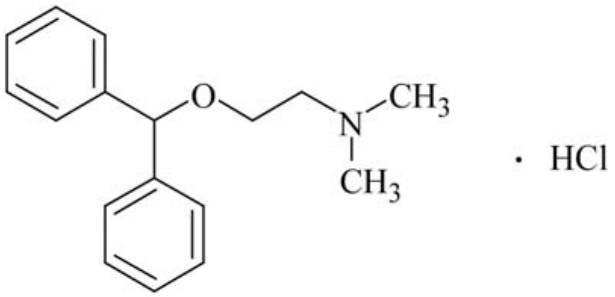
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE DIFENIDRAMINA

Diphenhydramini hydrochloridum



$C_{17}H_{21}NO.HCl$; 291,82
cloridrato de difenidramina; 02979
Cloridrato de 2-difenilmetoxi-*N*,*N*-dimetiletanamina (1:1)
[*147-24-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{17}H_{21}NO.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca, inodoro.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 167 ºC a 172 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C**.

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14)** da amostra dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de difenidramina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução da amostra a 0,05% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 253 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de cloridrato de difenidramina SQR.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)* obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A solução aquosa a 0,2% (p/v) e uma solução cinco vezes mais diluída são incolores **(5.2.12)**. A solução aquosa a 0,2% (p/v) não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC G* **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 4,0 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 5,0% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. Solubilizar 2,5 g da amostra em 50 mL de água. No máximo 0,25 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* é gasto para neutralizar 10 mL da amostra, utilizando vermelho de metila SI como indicador. No máximo 0,5 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* são necessários para mudar a cor da solução de rosa para amarelo.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel H, como suporte, e mistura de dietilamina, álcool metílico e clorofórmio (1:20:80), como fase móvel. Ativar a placa a 105 ºC, por uma hora. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 2% (p/v), em álcool metílico.

Solução (2): solução da amostra a 0,02% (p/v), em álcool metílico.

Solução (3): solução de cloridrato de difenidramina SQR a 2% (p/v), em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar em corrente de ar e nebulizar com ácido sulfúrico. Aquecer a 120 ºC, por 10 minutos, até o aparecimento das manchas. Nenhuma mancha obtida com a *Solução (1)*, com exceção da mancha principal, é mais intensa que àquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra, previamente dessecada e solubilizar em 20 mL de ácido acético glacial e 10 mL de acetato de mercúrio SR. Transferir uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, até mudança de cor para azul-esverdeado. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Alternativamente determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 29,182 mg de $C_{17}H_{21}NO.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico.

CLORIDRATO DE DIFENIDRAMINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% da quantidade declarada de $C_{17}H_{21}NO.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de difenidramina. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico 0,1 *M* e agitar com três porções de 20 mL de éter etílico. Descartar a camada etérea. Alcalinizar a fase aquosa com hidróxido de sódio 5 *M* e extrair com duas porções de 50 mL de *n*-heptano. Reunir os extratos orgânicos, lavá-los com 10 mL de água, filtrar sobre sulfato de sódio anidro e evaporar o filtrado até a secura. Solubilizar o resíduo em 1 mL de dissulfeto de carbono. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de difenidramina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Homogeneizar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de difenidramina com duas porções de 15 mL de clorofórmio, filtrando cada porção. Evaporar o filtrado até secura em banho-maria. Dessecar o resíduo em estufa a 80 °C, por uma hora. O resíduo funde em torno de 168 °C.

C. O resíduo obtido no teste **B.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 254 nm **(5.2.14)**, utilizando *meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{21}NO.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de difenidramina SQR, na mesma concentração e preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{21}NO.HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Cloridrato de difenidramina*. Preparar a *Solução (1)* e a *Solução (2)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 50 mg de cloridrato de difenidramina e extrair com três porções de 10 mL de clorofórmio. Filtrar, evaporar os extratos combinados até secura e solubilizar o resíduo em 5 mL de clorofórmio.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com clorofórmio.

Água (5.2.20.1). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,2 g de cloridrato de difenidramina, e solubilizar em 20 mL de ácido acético anidro e 10 mL de acetato de mercúrio a 6% (p/v) em ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 29,180 mg de $C_{17}H_{21}NO.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE DIFENIDRAMINA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{21}NO.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir uma quantidade de solução oral contendo 50 mg de cloridrato de difenidramina para um funil de separação. Adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico 2 *M* e extrair com três porções de 15 mL de éter etílico, descartando as fases etéreas. Em um segundo funil de separação, solubilizar 50 mg de cloridrato de difenidramina SQR em 25 mL de água. Tratar as soluções como segue: adicionar 2 mL de hidróxido de sódio *M* e extrair com 75 mL de *n*-heptano. Lavar o extrato de *n*-heptano com 10 mL de água, evaporar até secura e solubilizar o resíduo em 4 mL de clorofórmio. Filtrar se necessário para clarificar a solução. Determinar rapidamente o espectro de absorção no infravermelho da Solução padrão e da Solução amostra filtradas, usando clorofórmio como branco, em cela de 0,1 mm ou 1 mm e entre 7 μm a 15 μm. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de difenidramina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Evaporar à secura 1 mL da *Solução (1)*. Solubilizar o resíduo em 0,15 mL de água e adicionar 2 mL de ácido sulfúrico. Produz-se cor amarela, que, pela adição de 0,5 mL de ácido nítrico, muda para vermelha. Adicionar 15 mL de água, esfriar, adicionar 5 mL de clorofórmio e agitar. A camada clorofórmica adquire a coloração violeta.

Solução (1): acidificar volume de solução oral contendo 50 mg de cloridrato de difenidramina com ácido clorídrico 2 *M*, agitar com três porções de 20 mL de éter etílico. Descartar a fração etérea. Extrair com duas porções de 20 mL de clorofórmio, secar os extratos combinados sob sulfato de sódio anidro, filtrar, evaporar o clorofórmio e solubilizar o resíduo em 5 mL de clorofórmio.

C. Adicionar um excesso de hidróxido de sódio *M*. Ocorre desprendimento de vapores de amônio com odor característico, que pode ser reconhecido com o desenvolvimento de coloração vermelha quando um papel filtro fica exposto aos vapores desprendidos.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,0 a 6,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel H, como suporte, e mistura de álcool metílico e clorofórmio (20:80), como fase móvel. Aplicar, separadamente à placa, 5 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução (1)* descrita no teste **B.** de *Identificação*.

Solução (2): diluir um volume da *Solução (1)* para 100 volumes com clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e nebulizar com iodobismutato de potássio diluído SR. Examinar sob luz visível. Nenhuma mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Cloridrato de difenidramina

Acidificar volume da solução oral, medido com exatidão, contendo 0,1 g de cloridrato de difenidramina com ácido clorídrico 2 *M*, agitar e extrair com três porções de 20 mL de éter etílico. Descartar as frações etéreas. Alcalinizar a fração aquosa com hidróxido de sódio 5 *M* e extrair com quatro porções de 25 mL de éter etílico. Lavar os extratos etéreos combinados com duas porções de 5 mL de água. Extrair as águas de lavagem com 15 mL de éter etílico, reunir os extratos etéreos e evaporar à secura. Solubilizar o resíduo em 15 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* SV e titular o excesso de ácido com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, usando vermelho de metila SI. Cada mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* SV corresponde a 29,180 mg de $C_{17}H_{21}NO.HCl$.

Cloreto de amônio

Realizar o doseamento do cloreto de amônio quando estiver presente na formulação. Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de NH_4Cl.

Dissolver um volume da solução oral, medido com exatidão, em 20 mL de uma solução de cloreto de amônio a 5,0 %(p/v) em água. Adicionar mistura de 5 mL de formaldeído previamente neutralizado em presença de fenolftaleína SI e 20 mL de água. Após um a dois minutos, titular lentamente com hidróxido de sódio *M* SV em presença de 0,2 mL do mesmo indicador. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV corresponde a 53,490 mg de NH_4Cl. Se a amostra for colorida, tratar previamente com carvão ativado para remoção do corante.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

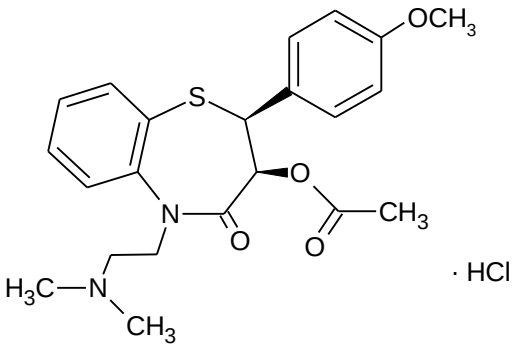
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE DILTIAZEM

Diltiazemi hydrochloridum



$C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$; 450,98
cloridrato de diltiazem; 03038
Cloridrato de (2S,3S)-3-acetiloxi-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-di-hidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona
[*33286-22-5*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico anidro.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão **(5.2.2)**: entre 207,5 °C e 212,0 °C, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +115 a +120, em relação à substância dessecada. Diluir 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 25 mL com água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de diltiazem SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Solubilizar 1,0 g da amostra em 20 mL de água isenta de dióxido de carbono. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 4,3 a 5,3. Solubilizar 1,0 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,400 g da amostra e solubilizar em uma mistura contendo 2 mL de ácido fórmico anidro e 60 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 45,1 mg de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo, antianginoso, antiarrítmico.

CLORIDRATO DE DILTIAZEM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Triturar cada comprimido individualmente e transferir, quantitativamente, o pó para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,03 mg/mL, utilizando uma mistura de álcool metílico e água (50:50) como solvente. Preparar *Solução Padrão* nas mesmas condições. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL
Aparelhagem: pás, 75 rpm
Tempos: 30 minutos e três horas

Procedimento: nos tempos de coleta, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar imediatamente e diluir, se necessário, com água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 237 nm **(5.2.14)**, utilizando *Meio de dissolução* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de diltiazem SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no máximo, 60% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ se dissolvem em 30 minutos e, no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ se dissolvem em três horas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 240 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 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Preparar as soluções imediatamente antes do uso.

Solução de ácido trifluoracético 0,05% (v/v) em água: transferir 0,5 mL de ácido trifluoracético para balão volumétrico de 1000 mL contendo água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução de ácido trifluoracético 0,05% (v/v) em álcool metílico: transferir 0,5 mL de ácido trifluoracético para balão volumétrico de 1000 mL contendo álcool metílico, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Fase móvel: mistura da *Solução de ácido trifluoracético 0,05% (v/v) em álcool metílico* e da *Solução de ácido trifluoracético 0,05% (v/v) em água* (56:44).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Diluir, quantitativamente, em uma solução de álcool metílico e água (50:50), para obter uma solução com concentração de 0,03 mg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cloridrato de diltiazem SQR, solubilizar em uma solução de álcool metílico e água (50:50) e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,03 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

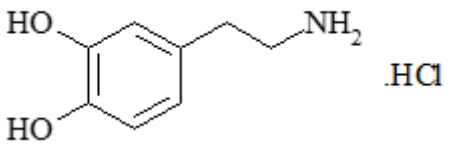
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE DOPAMINA

Dopamini hidrochloridum



$C_8H_{11}NO_2$.HCl; 189,64
cloridrato de dopamina; 03187
Cloridrato de 4-(2-aminoetil)-1,2-benzenodiol
[*62-31-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_{11}NO_2$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca, ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e solúvel em álcool etílico, álcool metílico e em soluções de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de dopamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Solubilizar 0,1 g da amostra em 5 mL de ácido sulfúrico. A preparação obtida não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC A* **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 3,0 a 5,5. Determinar em solução aquosa a 4,0% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. Solubilizar 0,5 g da amostra em 10 mL de água e adicionar 0,1 mL de vermelho de metila SI e 0,75 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* SV. Desenvolve-se coloração amarela. Adicionar 1,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* SV. Desenvolve-se coloração vermelha.

Substâncias relacionadas. 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 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1 mL/minuto. Proteger as soluções da luz direta.

Tampão: pesar 21 g de ácido cítrico, solubilizar em 200 mL de hidróxido de sódio *M*, diluir para 1000 mL com água e homogeneizar. Transferir 600 mL dessa solução para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar.

Eluente A: pesar 1,08 g de 1-octanossulfonato de sódio, solubilizar em 880 mL do *Tampão* e adicionar 50 mL de álcool metílico e 70 mL de acetonitrila. Homogeneizar, filtrar e desgaseificar.

Eluente B: pesar 1,08 g de 1-octanossulfonato de sódio, solubilizar em 700 mL do *Tampão* e adicionar 100 mL de álcool metílico e 200 mL de acetonitrila. Filtrar e desgaseificar.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 5	90	10	isocrática
5 – 20	90 → 40	10 → 60	gradiente linear
20 – 25	40	60	isocrática

Solução amostra: preparar, com exatidão, solução da amostra na concentração de 2 mg/mL utilizando *Eluente A* como solvente.

Solução padrão: Transferir 1 mL da *Solução amostra* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Eluente A* e homogeneizar. Transferir 1 mL da solução anterior para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar.

Solução de resolução: pesar, com exatidão, 10 mg de cloridrato de 3-*o*-metil-dopamina e 10 mg de cloridrato de 4-*o*-metil-dopamina e transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar com *Eluente A*. Homogeneizar. Transferir 6 mL da solução anterior para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão*, da *Solução amostra* e da *Solução de resolução* e registrar os cromatogramas. A resolução entre os picos de cloridrato de 3-*o*-metil-dopamina e cloridrato de 4-*o*-metil-dopamina é de, no mínimo, 5,0. A soma das áreas sob os picos obtidos com a *Solução amostra* é, no máximo, duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão* (0,2%). A área de qualquer pico individual é, no máximo, igual a área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão* (0,1%). Qualquer outra impureza registrada no cromatograma da *Solução amostra* possui área, no máximo, 0,5 vez a área obtida com o pico principal da *Solução padrão* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método I*. Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra, a 105 °C, por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5).** Pesar, com exatidão, 75 mg da amostra, solubilizar em 5 mL de ácido fórmico anidro e 25 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 18,964 mg de $C_8H_{11}NO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz, à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

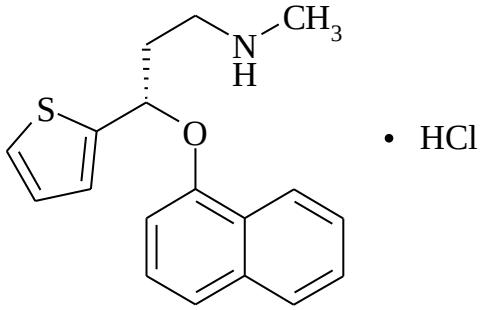
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Simpatomimético.

CLORIDRATO DE DULOXETINA

Duloxetini hydrochloridum



$C_{18}H_{19}NOS.HCl$; 333,88
cloridrato de duloxetina; 03263
Cloridrato de (3*S*)-*N*-Metil-3-(naftalen-1-iloxi)-3 (tiofen-2-il) propan-1-amina
[*136434-34-9*]

Contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{19}NOS.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica (**5.2.8**): +119 a +127, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de duloxetina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução da amostra a 0,0024% (p/v) em acetonitrila, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de cloridrato de duloxetina SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**. Determinar em solução a 0,5% (p/v) em álcool metílico.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica gel OD para separação quiral (5 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* 1 mL/minuto.

Fase móvel: diluir 2 mL de dietilamina para 1000 mL com mistura de álcool isopropílico e hexano (17:83) e homogeneizar.

Solução (1): pesar, com exatidão, 5 mg da amostra, solubilizar em 50 mL de *Fase móvel*, diluir para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): pesar, com exatidão, 5 mg de impureza A de duloxetina ((3*R*)-*N*-Metil-3-(naftalen-1-iloxi)-3 (tiofen-2-il) propan-1-amina) e 5 mg da amostra, solubilizar em 100 mL de *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*. A relação sinal-ruído é, no mínimo, 10 para a duloxetina. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. O tempo de retenção relativo entre duloxetina (tempo de retenção cerca de sete minutos) e impureza **A** é cerca de 1,3. A resolução entre os picos da duloxetina e impureza **A** é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A área sob o pico relativo à impureza **A**, obtido com a *Solução (1)*, é, no máximo, igual a área sob o pico principal obtido com a Solução (2) (0,5%).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar, com exatidão, 12 mg de amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 0,0012%(p/v).

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a relativa ao solvente, é de, no máximo, 0,4% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,2% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer áreas sob os picos com área menor que 0,05 vez a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos as áreas sob os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 2,5 g da amostra dissolvida em álcool metílico. Preparar a solução de referência, utilizando 2,5 mL de solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb) em álcool metílico. Utilizar o *Método II*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 0,12 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver com acetonitrila, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos, se necessário. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração de 0,0024% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{19}NOS.HCl$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura de 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato monobásico 50 m*M* pH 6,0, contendo 0,3% (v/v) de trietilamina, e acetonitrila (60:40).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 24 mg de amostra e transferir para balão volumétrico de 200 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Solubilizar, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir sucessivamente, em *Fase móvel*, até concentração de 0,0012% (p/v).

Solução padrão: pesar, com exatidão, 12 mg de cloridrato de duloxetina SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila. Solubilizar, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, em *Fase móvel*, até concentração de 0,0012% (p/v).

A eficiência da coluna para o pico do cloridrato de duloxetina é, no mínimo, 5000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{19}NOS.HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CLORIDRATO DE DULOXETINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de duloxetina ($C_{18}H_{19}NOS$).

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila, álcool metílico e hidróxido de amônio (85:10:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar o conteúdo de 10 cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 50 mg de duloxetina, transferir para balão volumétrico de 50 mL e solubilizar com 40 mL de acetonitrila. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos à temperatura ambiente. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1,12 mg/mL de cloridrato de duloxetina SQR, equivalente a 1 mg/mL de duloxetina, em acetonitrila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A**. de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar o conteúdo de 10 cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 25 mg de duloxetina para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar e filtrar. A solução resultante satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste para *Cápsulas com revestimento entérico (gastrorresistente)*.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Estágio ácido:

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 1000 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 120 minutos.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 11,2 mg de cloridrato de duloxetina SQR, equivalente a 10 mg de duloxetina para balão volumétrico de 100 mL, solubilizar com auxílio de tampão fosfato pH 6,8, completar o volume com tampão fosfato pH 6,8 e homogeneizar. Deixar em banho de ultrassom, se necessário. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 3 µg/mL de duloxetina.

Solução amostra: após o teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em *Fase móvel*, de modo a obter concentração teórica de 3 µg/mL de duloxetina.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B**. de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{29}NOS$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Estágio tampão pH 6,8:

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,8, 1000 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos (quando o valor declarado for de 60 mg, utilizar o tempo de 90 minutos)

Solução padrão: transferir, quantitativamente, 11,2 mg de cloridrato de duloxetina SQR, equivalente a 10 mg de duloxetina para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de tampão fosfato pH 6,8, completar o volume com tampão fosfato pH 6,8 e homogeneizar. Deixar em ultrassom, se necessário. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em *Fase móvel*, de modo a obter concentração teórica de 10 µg/mL de duloxetina.

Procedimento: após o teste do *Estágio ácido*, transferir as cestas contendo as amostras para cubas contendo 1000 mL de tampão fosfato pH 6,8 e realizar o teste do *Estágio tampão pH 6,8*. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{29}NOS$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância:
Estágio ácido: no máximo 10% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{19}NOS$ se dissolvem em 120 minutos.
Estágio tampão pH 6,8: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{19}NOS$ se dissolvem no tempo especificado.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar o conteúdo de 20 cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 10 mg de duloxetina para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de pequena

quantidade de acetonitrila, e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir em *Fase móvel*, até obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente, é, no máximo, 0,4% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,2% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vez a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar o conteúdo de 20 cápsulas. Transferir, para um balão volumétrico de 100 mL, quantidade de pó equivalente a 10 mg de duloxetina com o auxílio de 40 mL de acetonitrila. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume para 100 mL com acetonitrila. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração de 20 µg/mL de duloxetina. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular a quantidade de duloxetina ($C_{18}H_{19}NOS$) nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato monobásico 50 m*M* pH 6,0, contendo 0,3% (v/v) de trietilamina, e acetonitrila (60:40).

Solução amostra: pesar e pulverizar o conteúdo de 20 cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 10 mg de duloxetina para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em *Fase móvel*, até obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 11,2 mg de cloridrato de duloxetina SQR, equivalente a 10 mg de duloxetina, transferir para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de tampão fosfato pH 6,8, completar o volume com tampão fosfato pH 6,8, solubilizar e homogeneizar. Deixar em banho de ultrassom se necessário. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

A eficiência da coluna para o pico da duloxetina é, no mínimo, 5000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas das replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de duloxetina ($C_{18}H_{19}NOS$) nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

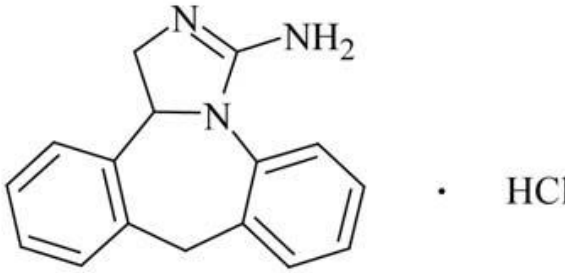
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLORIDRATO DE EPINASTINA

Epinastini hydrochloridum



$C_{16}H_{15}N_3$.HCl; 285,77
cloridrato de epinastina; 03440
Cloridrato de 9,13b-diidro-1*H*-dibenz[*c*,*f*]imidazo[1,5-*a*] azepin-3-amina (1:1)
[*108929-04-0*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{16}H_{15}N_3$.HCl em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou amarela-pálida.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 273 °C a 275 °C.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***B.*** *e* ***C.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de epinastina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 300 nm, da solução da amostra a 0,025% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo em 210 nm, idêntico ao observado no espectro de solução de cloridrato de epinastina SQR, preparada de maneira idêntica.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, até peso constante. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 207 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm) com base desativada, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de trietilamina a 0,3% (v/v), ajustar o pH para 4,0 com ácido fosfórico, e álcool metílico (60:40).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 25 mg de amostra, transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*, de modo a obter uma solução a 20 μg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 25 mg de cloridrato de epinastina SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*, de modo a obter uma solução a 20 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da S*olução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}N_3$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a S*olução padrão* e com a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico.

CLORIDRATO DE EPINASTINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}N_3$.HCl. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF254, como suporte, e mistura de água, álcool butílico e ácido acético glacial (50:40:10), como fase móvel. Preparar a fase móvel com 24 horas de antecedência. Em seguida, desprezar a camada inferior. Aplicar, separadamente à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, 10 mg de cloridrato de epinastina e transferir para balão volumétrico de 10 mL com auxílio de 5 mL de álcool metílico. Agitar mecanicamente por 10 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar.

Solução (2): preparar a solução a 1 mg/mL de cloridrato de epinastina SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de dose unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Preparar solução final contendo 20 µg/mL de cloridrato de epinastina.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 60 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Solução padrão: solubilizar em ácido clorídrico 0,1 *M* quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de epinastina SQR de modo a obter solução cuja concentração seja (L/900) mg/mL, em que L é a quantidade declarada, em miligramas, de cloridrato de epinastina por comprimido.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar imediatamente. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento* da monografia de *cloridrato de epinastina*. Injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra.* Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}N_3$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}N_3$.HCl se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de epinastina*. Preparar as *Soluções amostra* e *padrão* conforme descrito a seguir.

Solução amostra: pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 25 mg de cloridrato de epinastina e transferir para balão volumétrico de 50 mL com o auxílio de 30 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom à temperatura ambiente por 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, agitar e filtrar. Transferir alíquota equivalente a 4 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 25 mg de cloridrato de epinastina SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 30 mL de álcool metílico. Agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir alíquota equivalente a 4 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}N_3$.HCl, nos comprimidos, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

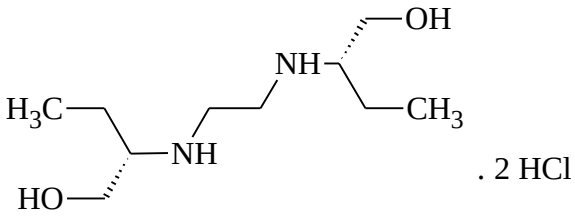
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE ETAMBUTOL

Ethambutoli hydrochloridum



$C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$; 277,23
cloridrato de etambutol; 03642
Cloridrato de (2*S*,2'*S*)-2,2'-(1,2-etanodi-ildi-imino)bis-1-butanol (2:1)
[*1070-11-7*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração branca, cristalino e higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool etílico e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 199 °C a 204 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +5,8 a +6,6, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 10,0% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observado no espectro de cloridrato de etambutol SQR preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Limite de aminobutanol*, corresponde em posição, cor e intensidade aquela obtida com a *Solução (4)*.

C. A solução aquosa a 10% (p/v) satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.l.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,7 a 4,0. Determinar em solução a 2% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Limite de aminobutanol. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio, água e álcool

metílico (10:15:75), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 50 mg/mL em álcool metílico.

Solução (2): solução da amostra a 5 mg/mL em álcool metílico.

Solução (3): solução de aminobutanol SQR a 0,5 mg/mL em álcool metílico.

Solução (4): solução de cloridrato de etambutol SQR a 5 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e aquecer a 110 °C por 10 minutos. Resfriar e nebulizar com ninidrina SR. Aquecer a placa a 110 °C por cinco minutos. Qualquer mancha secundária correspondente ao aminobutanol obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra, solubilizar em 100 mL de ácido acético glacial e 5 mL de acetato de mercúrio SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 13,862 mg de $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$.

B. Pesar, com exatidão, 0,1 g da amostra e solubilizar em 20 mL de uma solução preparada da seguinte maneira: mistura de 4 mL de sulfato cúprico SR com 70 mL de hidróxido de amônio 2 *M*, adição de 10 mL de hidróxido de sódio *M* e diluição para 100 mL com água. Após a completa solubilização, completar o volume para 25 mL com o mesmo solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir o ângulo de rotação das soluções em tubo adequado **(5.2.8)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$ na amostra a partir das leituras dos ângulos obtidos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente antibacteriano (tuberculostático).

CLORIDRATO DE ETAMBUTOL COMPRIMIDOS REVESTIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de cloridrato de etambutol ($C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$). Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de etambutol e homogeneizar com 3 mL de álcool metílico em gral de vidro. Adicionar 5 mL de álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Recolher o filtrado em béquer contendo 100 mL de acetona. Agitar a mistura e deixar ocorrer cristalização por 15 minutos. Remover o sobrenadante e secar os cristais com ar comprimido. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de etambutol*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de etambutol e agitar com 10 mL de água. Adicionar 2 mL de sulfato cúprico a 1% (p/v) e 1 mL de hidróxido de sódio *M*. Desenvolve-se coloração azul.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 1 g de cloridrato de etambutol solubilizar em 10 mL de água. A solução obtida satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** de *Doseamento*, correspondente àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cesta, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar, desprezando os 10 mL iniciais. Determinar a quantidade de etambutol dissolvido conforme descrito no método **A.** em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 22,2 mg de cloridrato de etambutol SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Solubilizar e completar o volume com o meio de dissolução. Homogeneizar e filtrar.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de aminobutanol. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio concentrado, água e álcool metílico (10:15:75), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,5 g de cloridrato de etambutol, adicionar 7 mL álcool metílico e agitar por cinco minutos. Completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e filtrar, de modo a obter solução a 50 mg/mL.

Solução (2): solução de aminobutanol SQR a 0,5 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e aquecer a 110 °C por 10 minutos. Resfriar e nebulizar com ninidrina SR. Aquecer a 110 °C por cinco minutos Qualquer mancha secundária corresponde ao aminobutanol obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; coluna de 100 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 2,0 mL/minuto.

Tampão acetato de amônio pH 5,0: transferir quantitativamente 50 g de acetato de amônio e 0,2 g de acetato de cobre para balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água, homogeneizar e ajustar a pH 5,0 com ácido acético glacial.

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato de amônio pH 5,0* e álcool metílico (94:6).

Diluente: água e álcool metílico (94:6).

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de etambutol para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Diluente*. Agitar e filtrar. Diluir em *Fase móvel* para obter solução a 0,4 mg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de cloridrato de etambutol SQR em solubilizar em *Diluente*, de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com as *Solução padrão* e *Solução amostra*.

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,2 g de cloridrato de etambutol e transferir para funil de separação. Adicionar 20 mL de solução de hidróxido de sódio 2 *M* e agitar durante cinco minutos. Extrair com cinco porções de 25 mL de clorofórmio. Reunir os estratos clorofórmicos em béquer e evaporar em banho-maria até volume de aproximadamente 25 mL. Filtrar em papel para um erlenmeyer. Lavar o béquer e o papel de filtro com 100 mL de ácido acético glacial. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**, utilizando como indicador 10 gotas de 1-naftolbenzeína SI e como agente titulante ácido perclórico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias.. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 13,862 mg de cloridrato de $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

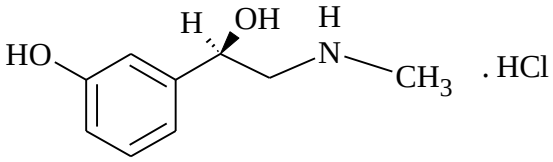
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE FENILEFRINA

Phenylephrini hydrochloridum



$C_9H_{13}NO_2$.HCl; 203,65
cloridrato de fenilefrina; 03926
Cloridrato de (1R)-2-metilamino-1-(3-hidroxifenil)etanol
[*61-76-7*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_9H_{13}NO_2$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2):** 140 °C a 145 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8):** -43 a -47,0, em relação à substância dessecada. Determinar em solução aquosa a 2,0% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de fenilefrina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar, com exatidão, 10 mg da amostra, solubilizar em 1 mL de água e adicionar 50 µL de uma solução de sulfato de cobre a 125 g/L e 1 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 200 g/L. Desenvolve-se coloração violeta. Adicionar 1 mL de éter e agitar, a camada superior permanece incolor.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 2% (p/v) é límpida **(5.2.24)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez e alcalinidade. Adicionar a 10 mL de uma solução aquosa a 2% (p/v), 0,1 mL de uma solução de vermelho de metila SI e 0,2 mL de hidróxido sódio 0,01 *M*. A solução desenvolve coloração

amarela. No máximo 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* deve ser gasto para a solução desenvolver coloração vermelha.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 nm; coluna de 55 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada ao grupamento octadecilsilano (3 µm), mantida à temperatura de 45 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Solução tampão pH 2,8: pesar 3,25 g de octanosulfonato de sódio monoidratado, solubilizar em 1000 mL de água e ajustar o pH em 2,8 ± 0,1 com ácido fosfórico SR.

Diluente: mistura do *Eluente A* e *Eluente B* (80:20 v/v).

Eluente A: mistura de acetonitrila e solução tampão pH 2,8 (10:90 v/v).

Eluente B: mistura de solução tampão pH 2,8 e acetonitrila (10:90 v/v).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 3	93	7	isocrática
3 - 13	93 → 70	7 → 30	gradiente linear
13 - 14	70 → 93	30 → 7	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg de cloridrato de fenilefrina, transferir para balão volumétrico de 50 mL, solubilizar com 30 mL de *Diluente* e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução de referência: transferir 5 mL da *Solução amostra* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*. Transferir 2 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente.*

Solução de resolução: dissolver o conteúdo de um frasco de *Cloridrato de fenilefrina para identificação de pico* SQR (contendo as impurezas C e E) em 2 mL do *Diluente*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. O tempo de retenção é cerca de 2,8 minutos para a fenilefrina e os tempos de retenção relativos são cerca de 1,3 para a impureza C e 3,6 para a impureza E. O fator de cauda para o pico principal não é maior que 1,9. Relação de pico e vale: mínimo de 5, em que Hp = altura acima da linha de base do pico devido à impureza C; Hv = altura acima da linha de base o ponto mais baixo da curva que separa este cume do pico devido à fenilefrina.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e da *Solução de referência*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Para calcular a quantidade de impureza C e E, multiplicar a área sob o pico de cada impureza por 0,5.

Impureza C e E: para cada pico de impureza C e E obtido na *Solução amostra*, a área não é maior que a área sob o pico principal obtido coma a *Solução de referência* (0,1%).

Impurezas inespecíficas: para cada pico de impureza obtido na *Solução amostra*, a área não é maior que a área sob o pico principal obtido coma a *Solução de referência* (0,1%).

Impurezas totais: o somatório das áreas sob os picos de impureza obtidos na *Solução amostra* não é maior que duas vezes a área sob o pico principal obtido coma a *Solução de referência* (0,2%).

Desconsiderar: picos de impurezas com áreas inferiores a 0,5 vezes a área sob o pico principal obtido coma a *Solução de referência* (0,05%).

Sulfatos (5.3.2.2). Transferir 15 mL de uma solução aquosa a 2% (p/v) para tubo de Nessler. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos* **(5.3.2.2)**. No máximo 0,05% (500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por quatro horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, 0,15 g da amostra e solubilizar em uma mistura de 0,5 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e 80 mL de álcool etílico a 96%. Titular com hidróxido de sódio etílico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 20,37 mg de $C_9H_{13}NO_2$.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz, umidade e luz natural direta.

ROTULAGEM

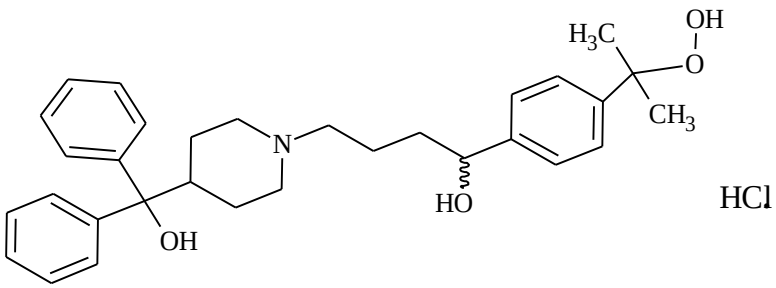
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticolinérgico.

CLORIDRATO DE FEXOFENADINA

Fexofenadini hydrochloridum



$C_{32}H_{39}NO_4$.HCl; 538,12
cloridrato de fexofenadina; 04038
Cloridrato do ácido 4-[1-hidroxi-4-[4-(hidroxidifenilmetil)-1-piperidinil]butil]-*α,α*-dimetil-benzenoacético (1:1)
[*153439-40-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou branco pálido.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, muito solúvel em álcool etílico e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 195 °C a 197 °C.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de fexofenadina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 370 nm, de solução a 0,0014% (p/v) em álcool etílico, exibe um ombro característico em 220 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de cloridrato de fexofenadina SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida em *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

ENSAIOS DE PUREZA

Cloretos. Pesar 0,3 g da amostra e solubilizar em 50 mL de álcool metílico. Titular potenciometricamente com nitrato de prata 0,1 *M* SV. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 3,545 mg de cloreto. Deve apresentar teor entre 6,45% a 6,75% de cloreto, calculado sobre a substância anidra.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo 0,5%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 220 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 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetato de amônio 0,05 *M* e acetonitrila (50:50). Ajustar o pH em 3,2 com ácido clorídrico *M*.

Solução amostra: pesar 20 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de cloridrato de fexofenadina SQR e solubilizar em *Fase móvel* de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 2500 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico.

CLORIDRATO DE FEXOFENADINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar quantidade suficiente de comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a cerca de 60 mg de cloridrato de fexofenadina para um tubo com tampa. Adicionar 10 mL da mistura de acetonitrila e álcool metílico (10:1), e agitar em vórtex por um a dois minutos até dispersão da amostra. Deixar a solução em repouso por 10 minutos ou centrifugar por dois a três minutos. Filtrar, usando um filtro de 0,45 µm politetrafluoretileno, para um frasco de 50 mL. Evaporar o solvente até cerca de 0,5 mL usando fluxo de nitrogênio com suave aquecimento (não exceder a 75 ºC). Adicionar 5 mL de água e cinco gotas de ácido clorídrico diluído, agitar e induzir a precipitação. Introduzir em banho de gelo por 30 minutos. Filtrar a solução para cadinho de vidro sinterizado de 10 µm a 15 µm. Secar o precipitado em estufa a 105 °C por uma hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fexofenadina SQR, preparado de maneira idêntica. Para preparar a dispersão de brometo de potássio com a fexofenadina SQR, deve-se transferir cerca de 60 mg do padrão para um tubo com tampa e proceder a partir de "Adicionar 10 mL da mistura de acetonitrila e álcool metílico (10:1) ...".

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 14 mg de cloridrato de fexofenadina e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 60 mL de álcool etílico. Agitar por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de fexofenadina.*

C. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 10 mg de cloridrato de fexofenadina e agitar com 10 mL de álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de fexofenadina.*

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Cloridrato de fexofenadina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota de dissolução e diluir até concentração próxima à da *Solução padrão*, utilizando *Fase móvel* como diluente.

Tolerância: no mínimo 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Cloridrato de fexofenadina.* Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 40 mg de cloridrato de fexofenadina para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 120 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 30 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Soluções padrão* e da *Solução amostra,* registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

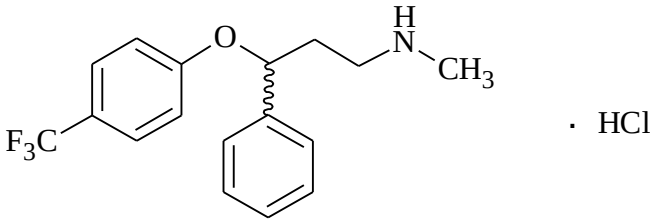
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE FLUOXETINA

Fluoxetini hydrochloridum



$C_{17}H_{18}F_3NO.HCl$; 345,79
cloridrato de fluoxetina; 04177
Cloridrato de *N*-metil-*γ*-[4-(trifluormetil)fenoxi] benzenopropanamina (1:1)
[*56296-78-7*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{17}H_{18}F_3NO.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 158,4 °C a 158,9 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -0,05 a +0,05. Determinar em solução a 2% (p/v) em mistura de água e álcool metílico (15:85).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada e dispersa em brometo de potássio há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de fluoxetina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro de solução similar de cloridrato de fluoxetina SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da S*olução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da S*olução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1).**

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 6,5. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

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

Tampão fosfato pH 3,6: pesar 3,395 g de sulfato de tetrabutilamônio e 1,361 g de fosfato de potássio monobásico, transferir para balão volumétrico de 1000 mL, solubilizar em 900 mL de água, ajustar o pH para 3,6 com hidróxido de amônio e completar o volume com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 3,6* e acetonitrila (78:22).

Solução (1): pesar, com exatidão, 30 mg de cloridrato de fluoxetina SQR, transferir para balão volumétrico de 250 mL, solubilizar na *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 1,2 μg/mL.

Solução (2): pesar, com exatidão, 30 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução (1)*. O fator de cauda é, no máximo, 1,7. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 10%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. Calcular a porcentagem de cada impureza da *Solução (2)* a partir da fórmula: *0,1(ri/rp)*, onde *ri* é a resposta do pico de impureza na *Solução (2)* e *rp* é a resposta do pico referente à fluoxetina na *Solução (1)*. No máximo 0,15% de impureza com tempo de retenção relativo de 0,88 e no máximo 0,1% de outra impureza individual. No máximo 0,5% de impurezas totais.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 0,67 g da amostra. Utilizar solução padrão de chumbo 2 ppm. No máximo 0,003% (30 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 75 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e solubilizar em ácido

clorídrico 0,1 *M*. Completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,0015% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 227 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}F_3NO.HCl$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 227 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão trietilamina pH 6,0: transferir 10 mL de trietilamina para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar cerca de 980 mL de água, ajustar o pH para 6,0 com ácido fosfórico e completar o volume com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão trietilamina pH 6,0*, tetraidrofurano e álcool metílico (6:3:1).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 27,5 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Solubilizar com *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 27,5 mg de cloridrato de fluoxetina SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Solubilizar em *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 μL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Soluções padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}F_3NO.HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Soluções padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CLORIDRATO DE FLUOXETINA COMPRIMIDOS

Contém cloridrato de fluoxetina equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 10 mg de fluoxetina para béquer, solubilizar 10 mL de álcool etílico e filtrar. Lavar o recipiente com 5 mL do mesmo solvente e evaporar o filtrado em banho-maria até resíduo. O resíduo obtido, dessecado a 60 °C, em estufa sob pressão reduzida, por três horas satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de fluoxetina*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 20 mg de fluoxetina, transferir para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com água. Homogeneizar e filtrar. A solução resultante satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, no mesmo solvente, até concentração de 0,0015% (p/v) de fluoxetina. Preparar solução padrão na mesma concentração de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$), utilizando cloridrato de fluoxetina SQR e o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 227 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$) em cada comprimido a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 227 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$) dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de fluoxetina SQR na concentração de 0,0015% (p/v) de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$), preparada com o mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 70% (Q) da quantidade declarada de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$) se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* da monografia de *Cloridrato de fluoxetina*. Preparar a *Solução (2)* como descrito a seguir.

Solução (2): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 20 mg de fluoxetina, transferir para balão volumétrico de 10 mL, acrescentar 8 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza no cromatograma da *Solução (2)*, utilizando a fórmula: $100 (r_i / r_t)$ em que r_i é a resposta de cada pico, excluindo o pico relativo à fluoxetina, e r_t é a soma das respostas de todos os picos, incluindo o pico relativo à fluoxetina. Não considerar os picos relativos aos solventes. No máximo, 0,25% de impureza individual e 0,40% de impureza total.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 15 mg de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$) e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom por 5 minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, no mesmo solvente, até concentração de 0,0015% (p/v) de fluoxetina. Preparar solução padrão na mesma concentração de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$), utilizando cloridrato de fluoxetina SQR e o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 227 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$) nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de fluoxetina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 10 mg de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$), transferir para balão volumétrico de 100 mL e acrescentar 70 mL de *Fase móvel*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de fluoxetina ($C_{17}H_{18}F_3NO$) nos comprimidos, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE FLURAZEPAM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{21}H_{23}ClFN_3O.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de tolueno, acetona e hidróxido de amônio a 25% (v/v) (50:50:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de flurazepam, trasnferir para béquer, adicionar 10 mL de álcool metílico, agitar por cinco minutos e filtrar.

Solução (2): solução de cloridrato de flurazepam SQR a 2 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Proceder ao abrigo da luz. Pesar individualmente e transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 2 mL de água e deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Adicionar 80 mL de álcool metílico e submeter ao banho de ultrassom por mais cinco minutos. Agitar por 10 minutos e completar o volume com álcool metílico. Centrifugar e filtrar, se necessário. Diluir sucessivamente com ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M* de modo a obter concentração de 0,003% (p/v) de cloridrato de flurazepam. Preparar solução padrão conforme descrito no *Doseamento*. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 284 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFN_3O.HCl$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 319, em 284 nm, em ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 20 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquotas do meio de dissolução, filtrar com auxílio de membrana com porosidade de 0,45 μm. Medir as absorvâncias das soluções em 270 nm **(5.2.14)**, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFN_3O.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de flurazepam SQR na concentração de 0,0033% (p/v).

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{21}H_{23}ClFN_3O.HCl$ se dissolvem em 20 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Realizar o doseamento ao abrigo da luz. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,3 g de cloridrato de flurazepam e transferir para para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 2 mL de água e deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Adicionar 80 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por mais cinco minutos. Agitar por 10 minutos e completar o volume com álcool metílico. Centrifugar e filtrar, se necessário. Diluir sucessivamente com ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M* de modo a obter concentração de 0,003% (p/v) de cloridrato de flurazepam. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 284 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFN_3O.HCl$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 319, em 284 nm, em ácido sulfúrico metanólico 0,1 *M*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

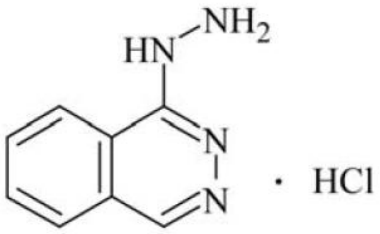
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE HIDRALAZINA

Hydralazini hydrochloridum



$C_8H_8N_4$.HCl; 196,64
cloridrato de hidralazina; 04647
Cloridrato de 1-hidrazinilftalazina (1:1)
[*304-20-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_8N_4$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão **(5.2.2)**: 275 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** e **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada e dispersa em cloreto de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de hidralazina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução a 0,002% (p/v) em água, há máximos de absorção em 240 nm, 260 nm, 305 nm e 315 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de cloridrato de hidralazina SQR. Os valores das absorvâncias são de, aproximadamente, 1,1, 1,1, 0,53 e 0,43, respectivamente.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. A solução aquosa da amostra a 0,025% (p/v) satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,5 a 4,2. Determinar em solução a 2% (p/v) em água.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução teste* como descrito a seguir.

Solução teste: pesar, com exatidão, 25 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL, solubilizar em 30 mL de ácido acético 0,1 *M* e completar o volume com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução teste*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico principal, não é superior a 1,0% da área total dos picos obtidos, incluindo a do pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Umedecer o resíduo obtido em *Resíduo por incineração* com 2 mL de ácido clorídrico, evaporar, secar e adicionar 20 mL de água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados, Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 110 ºC, por 15 horas, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL com tampa e solubilizar em 25 mL de água. Adicionar 35 mL de ácido clorídrico e resfriar à temperatura ambiente. Adicionar 5 mL de clorofórmio e titular com iodato de potássio 0,02 *M* SV. Próximo ao ponto final, adicionar o titulante gota a gota, agitando continuamente até desaparecimento da coloração púrpura da camada de clorofórmio. Alternativamente, determinar o ponto final potenciometricamente, excluindo o clorofórmio. Cada mL de iodato de potássio 0,02 *M* SV equivale a 3,933 mg de $C_8H_8N_4$.HCl.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo nitrila (10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: solubilizar 1,44 g de laurilsulfato de sódio e 0,75 g de brometo de tetrabutilamônio em 770 mL de água, adicionar 230 mL de acetonitrila e homogeneizar. Se necessário, ajustar o pH para 3,0 com ácido sulfúrico 0,05 *M*.

Solução amostra: pesar, com exatidão, quantidade da amostra e solubilizar em ácido acético 0,1 *M* de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 Ml, completar o volume com ácido acético 0,1 *M* e homogeneizar, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de cloridrato de hidralazina SQR e solubilizar em ácido acético 0,1 *M* de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 Ml, completar o volume com ácido acético 0,1 *M* e homogeneizar, obtendo solução a 40 μg/mL.

Solução de resolução: preparar solução em ácido acético 0,1 *M* contendo aproximadamente 0,25 mg de cloridrato de hidralazina SQR e 50 μg de ftalazina por mililitro. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com ácido acético 0,1 *M* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução de resolução.* Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,65 para a ftalazina e 1,0 para o cloridrato de hidralazina. A resolução entre os picos de ftalazina e de cloridrato de hidralazina é, no mínimo, 4,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_8H_8N_4$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vasodilatador.

CLORIDRATO DE HIDRALAZINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_8H_8N_4$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina, trasnferir para funil de separação e adicionar 2 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e 10 mL de água. Extrair com duas porções de 10 mL de clorofórmio. Reunir os extratos orgânicos e evaporar até secura. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de hidralazina*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximos de absorção em 240 nm, 260 nm, 305 nm e 315 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, correspondente àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina, trasnferir para béquer, adicionar 50 mL de mistura de álcool metílico e água (1:2), homogeneizar e filtrar. Concentrar o filtrado em banho-maria até 10 mL e deixar esfriar. A 5 mL da solução concentrada, adicionar 5 mL de 2-nitrobenzaldeído a 2% (p/v) em álcool etílico. Produz-se precipitado laranja.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Triturar cada comprimido até pó fino, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de mistura de álcool metílico e água (1:2). Prosseguir conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*, a partir de "Agitar mecanicamente...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,01 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 260 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_8N_4$.HCl

dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de hidralazina SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada em ácido clorídrico 0,01 *M*.

Tolerância: no mínimo 60% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_8N_4$.HCl se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina e trasnferir para béquer e acrescentar 25 mL de água. Adicionar 35 mL de ácido clorídrico e resfriar à temperatura ambiente. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos. Titular com iodato de potássio 0,02 *M* SV, com agitação contínua. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de iodato de potássio 0,02 *M* SV equivale a 3,933 mg de $C_8H_8N_4$.HCl.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 50 mg de cloridrato de hidralazina, tranferir para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 25 mL de mistura de álcool metílico e água (1:2). Agitar, mecanicamente, por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando água como solvente. Preparar a solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 260 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_8N_4$.HCl nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de hidralazina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de hidralazina, transferir para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 40 mL de ácido acético 0,1 *M* e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com ácido acético 0,1 *M*, obtendo solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_8H_8N_4$.HCl nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE HIDRALAZINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_8H_8N_4$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D.***

A. Transferir volume da solução injetável equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina para funil de separação. Adicionar 2 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e 10 mL de água. Extrair com duas porções de 10 mL de clorofórmio. Reunir os extratos orgânicos e evaporar até secura. O resíduo responde ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de hidralazina*.

B. Diluir a solução injetável em água, até concentração de 0,002% (p/v). O espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução obtida, na faixa de 230 nm a 350 nm, exibe máximos de absorção em 240 nm, 260 nm, 305 nm e 315 nm.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Transferir volume da solução injetável equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina para um béquer e adicionar água, se necessário, para obter volume final de 10 mL. Transferir a 5 mL da solução, 5 mL de 2-nitrobenzaldeído a 2% (p/v) em álcool etílico. Produz-se precipitado laranja.

E. Diluir a solução injetável em água, até concentração de 0,025% (p/v). A solução obtida satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,4 a 4,4.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 1,45 UE/mg de cloridrato de hidralazina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Transferir, para erlenmeyer de 250 mL com tampa, volume da solução injetável contendo o equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina, 25 mL de água e prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de hidralazina* a partir de "Adicionar 35 mL de ácido clorídrico...". Cada mL de iodato de potássio 0,02 *M* SV equivale a 3,933 mg de $C_8H_8N_4$.HCl.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, para balão volumétrico de 100 mL, volume da solução contendo o equivalente a 0,1 g de cloridrato de hidralazina e completar o volume com mistura de álcool metílico e água (1:2). Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando água como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 260 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_8N_4$.HCl na solução injetável a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de hidralazina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, para balão volumétrico de 50 mL, volume da solução injetável contendo o equivalente a 20 mg de cloridrato de hidralazina, completar o volume com ácido acético 0,1 *M* e homogeneizar. Transferir 5 mL da solução obtida para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com ácido acético 0,1 *M*, obtendo solução a 40 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_8H_8N_4$.HCl na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

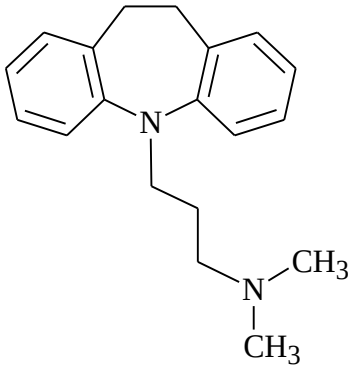
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE IMIPRAMINA



$C_{19}H_{24}N_2$.HCl; 316,87
cloridrato de imipramina; 04837
Cloridrato de 10,11-di-hidro-*N*,*N*-dimetil-5*H*-dibenz[*b*,*f*]azepina-5-propanamina (1:1)
[*113-52-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{19}H_{24}N_2$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca a levemente amarelada.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 170 °C a 174 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de imipramina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,6 a 5,0. Determinar em solução a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido clorídrico, água, ácido acético

glacial e acetato de etila (5:5:35:55), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solubilizar 0,25 g da amostra em álcool metílico e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com álcool metílico. Diluir 1 mL da solução resultante para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): solubilizar 5 mg de iminodibenzila em álcool metílico e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de dicromato de potássio a 0,5% (p/v) em mistura de água e ácido sulfúrico (4:1). Qualquer mancha secundária, correspondente ao iminodibenzila, obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,2%). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal e do iminodibenzila, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Metais pesados (5.3.2.3). Prosseguir conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida*, *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 269 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 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.

Fase móvel: mistura de perclorato de sódio 0,06 *M*, acetonitrila e trietilamina (625:375:1). Ajustar o pH para 2,0 com ácido perclórico.

Solução amostra: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, da amostra em mistura de água e acetonitrila (5:3) de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de imipramina SQR em mistura de água e acetonitrila (5:3) para obter solução a 0,3 mg/mL.

Solução de resolução: preparar solução contendo cloridrato de imipramina SQR e cloridrato de desipramina SQR a 0,3 mg/mL, cada, em mistura de água e acetonitrila (5:3).

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução.* A resolução entre os picos do cloridrato de imipramina e do cloridrato de desipramina é, no mínimo, 1,3. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrado para o cloridrato de imipramina é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra,* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{24}N_2$. HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CLORIDRATO DE IMIPRAMINA COMPRIMIDOS

Contém cloridrato de imipramina equivalente a, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{19}H_{24}N_2$**.**HCl.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,25 g de cloridrato de imipramina e homogeneizar com 10 mL de clorofórmio. Filtrar e evaporar para reduzir o volume. Adicionar éter etílico até que se produza uma solução turva. Deixar em repouso. O precipitado, após filtração seguida de recristalização em acetona, apresenta ponto de fusão em torno de 172 °C.

B. Solubilizar 5 mg dos cristais obtidos no teste **A.** de *Identificação* em 2 mL de ácido nítrico. Desenvolve-se coloração azul.

C. Os cristais obtidos no teste **A.** de *Identificação* respondem as reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,01 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 250 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{24}N_2$**.**HCl dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de imipramina SQR de concentração conhecida, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{19}H_{24}N_2$**.**HCl se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* da monografia de *cloridrato de Imipramina*. Preparar as *Soluções (1), (2)* e *(3)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,2 g de cloridrato de imipramina e adicionar 30 mL de clorofórmio. Filtrar. Evaporar o filtrado até secura. Solubilizar o resíduo em 10 mL de álcool metílico.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool metílico. Diluir 1 mL da solução resultante para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): preparar solução a 60 μg/mL de iminodibenzila em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com solução dicromato de potássio a 0,5% (p/v) em ácido sulfúrico (1:4). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* apresenta coloração azul. Qualquer mancha secundária, correspondente ao iminodibenzil, obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (3)* (0,2%). Qualquer mancha secundária obtida diferente da mancha principal não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de imipramina, trasnsferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Agitar, mecanicamente, por 40 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 250 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o conteúdo de $C_{19}H_{24}N_2$**.**HCl nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar o cálculo utilizando A (1%, 1 cm) = 264, em 250 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

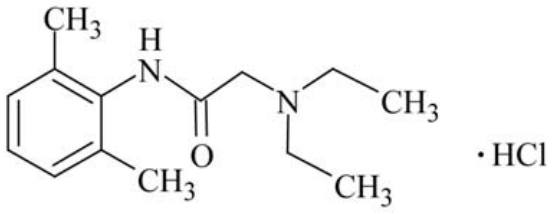
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA

Lidocaini hydrochloridum



$C_{14}H_{22}N_2O.HCl$; 270,80
cloridrato de lidocaína; 05314
Cloridrato de 2-(dietilamino)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida (1:1)
[*73-78-9*]

$C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$; 288,81
cloridrato de lidocaína monoidratada; 11386
Cloridrato de 2-(dietilamino)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida hidratado (1:1:1)
[*6108-05-0*]

Contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 102,5% de $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branco.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 74 °C a 79 °C, para a forma monoidratada.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)**, da amostra dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de lidocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 5,5. Determinar em solução aquosa a 0,5% (p/v).

Limite de 2,6-dimetilanilina.

Solução teste: pesar, com exatidão, 0,25 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução de 2,6-dimetilanilina: pesar, com exatidão, 50 mg de 2,6-dimetilanilina, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico.

Procedimento: utilizar três tubos de Nessler e realizar o ensaio da seguinte maneira: no primeiro tubo colocar 2 mL da *Solução teste*, no segundo tubo 1 mL da *Solução de 2,6-dimetilanilina* e 1 mL de álcool metílico e no terceiro tubo 2 mL de álcool metílico (branco). Adicionar em cada tubo 1 mL de solução de *p*-dimetilaminobenzaldeído 1% (p/v) em álcool metílico, recentemente preparada e 2 mL de ácido acético glacial. Deixar em repouso durante 10 minutos à temperatura ambiente. A intensidade da coloração amarela obtida no tubo da *Solução teste* deve estar entre o branco e a coloração amarela obtida na *Solução de 2,6-dimetilanilina* (100 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar 1,0 g da amostra. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados, Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos. Pesar, 0,2 g da amostra e solubilizar em 20 mL de água e 2 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Homogeneizar e adicionar 1 mL de cloreto de bário 12% (p/v). Concomitantemente preparar o padrão de referência pela mistura de 0,1 mL de ácido sulfúrico 0,02 *M* com 22 mL de água e 1 mL de cloreto de bário 12% (p/v). Deixar em repouso por 10 minutos. A turbidez obtida pela amostra não é mais intensa do que a turbidez obtida pelo padrão de referência. No máximo 0,1%.

Água (5.2.20.1). 5,0% a 7,0%, para a forma monoidratada.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

Quando o rótulo indicar que a substância é estéril, ela deve cumprir os testes de esterilidade e endotoxinas bacterianas. Quando o rótulo indicar que a substância deve ser esterilizada durante a produção ou a substância é destinada à produção de preparações estéreis não-parenterais, ela deve cumprir o teste de endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 1,1 UE/mg de cloridrato de lidocaína.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, 0,22 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 125 mL e solubilizar em 50 mL de álcool etílico. Adicionar 5,0 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 27,08 mg de $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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: homogeneizar 50 mL de ácido acético glacial e 930 mL de água. Ajustar o pH para 3,4 com hidróxido de sódio *M.* Misturar quatro volumes dessa solução com um volume de acetonitrila. O tempo de retenção da lidocaína deve estar entre quatro e seis minutos.

Solução amostra: transferir 100 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: solução de cloridrato de lidocaína SQR a 2,0 mg/mL em *Fase móvel*.

Solução de resolução: preparar solução de metilparabeno a 220 µg/mL utilizando a *Fase móvel* como diluente. Misturar 2 mL dessa solução e 20 mL da *Solução padrão*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de lidocaína e metilparabeno é, no mínimo, 3. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

Quando a matéria-prima é utilizada no processo de fabricação de injetáveis ou outras formas farmacêuticas estéreis, o rótulo deve indicar se o produto é estéril ou se deve ser esterilizado durante o processo.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local.

CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA GEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$ em base hidrofílica, viscosa e estéril.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar, com exatidão, quantidade de gel equivalente a 80 mg de cloridrato de lidocaína e trasnferir para um tubo de ensaio, adicionar 4 mL de ácido clorídrico e aquecer em banho de água por 10 minutos. Deixar esfriar, transferir para funil de separação com auxílio de 20 mL de água, adicionar hidróxido de sódio 5 *M* até ocorrer a completa precipitação do fármaco e extrair com duas porções de 20 mL de clorofórmio. Juntar as fases orgânicas e filtrar com sulfato de sódio anidro. Evaporar o filtrado em banho de água até secura, sob corrente de nitrogênio. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de lidocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Solubilizar 20 mg do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* em 1 mL de álcool etílico, adicionar 0,5 mL de cloreto cobaltoso a 10% (p/v), 0,5 mL de hidróxido de sódio 5 *M* e agitar por dois minutos. Produz-se precipitado verde-azulado.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 7,0.

Limite de 2,6-dimetilanilina. Pesar, com exatidão, quantidade de gel equivalente a 25 mg de cloridrato de lidocaína anidra e homogeneizar com água suficiente para produzir 5 mL e agitar em agitador de vórtex. A 2 mL dessa mistura, transferir 1 mL de solução, recentemente preparada, de *p*-dimetilaminobenzaldeído 1% (p/v) em álcool metílico. Agitar em agitador de vórtex e adicionar 2 mL de ácido acético glacial. Deixar em repouso durante 10 minutos à temperatura ambiente. Preparar solução padrão de 2,6-dimetilanilina nas mesmas condições, utilizando 2 mL de uma 2,6-dimetilanilina a 0,0002% (v/v) em álcool metílico, ao invés da solução do gel. A intensidade da coloração amarela obtida no tubo da solução teste não é mais intensa do que a obtida na solução padrão de 2,6-dimetilanilina.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, quantidade de gel equivalente a 20 mg de cloridrato de lidocaína e transferir para funil de separação contendo 10 mL de água. Agitar para diluir, adicionar 1 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e extrair com quatro porções de 20 mL de clorofórmio. Juntar as fases orgânicas e evaporar em corrente de ar quente. Adicionar 25 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* SV antes que o último traço de clorofórmio seja evaporado. Completar a evaporação do clorofórmio e titular o

excesso de ácido com hidróxido de sódio 0,01 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* SV equivale a 2,708 mg de $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados. A tampa, devido à esterilidade, deve apresentar dispositivo indicativo de abertura do tubo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA POMADA

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}N_2O$ em pomada base hidrofílica.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar, com exatidão, quantidade de pomada equivalente a 300 mg de lidocaína e transferir para funil de separação contendo 20 mL de água. Agitar para diluir e extrair com duas porções de 30 mL de hexano. Lavar o combinado dos extratos orgânicos com 10 mL de água e evaporar em corrente de ar quente. Secar o resíduo utilizando sílica-gel por 24 horas, sob pressão reduzida. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo cristalino obtido na extração do fármaco, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de lidocaína padrão, preparado de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de 2,6-dimetilanilina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Tampão pH 8,0: transferir a uma solução de fosfato de potássio dibásico a 0,685% (p/v), quantidade suficiente de fosfato de potássio monobásico a 0,408% (p/v) até pH 8,0.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 8,0* e álcool metílico (35:65).

Solução (1): pesar, com exatidão, quantidade de pomada contendo o equivalente a 50 mg de lidocaína, transferir para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução de (2): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de 2,6-dimetilanilina em álcool metílico para obter solução a 1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, em *Fase móvel* até concentração de 0,04 μg/mL.

Solução (3): homogeneizar iguais volumes de solução de lidocaína SQR 0,1 mg/mL em *Fase móvel* e solução de 2,6-dimetilanilina 0,05 g/mL em *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1 para a 2,6-dimetilanilina e de 0,5 para lidocaína.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e 20 μL da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico relativo à 2,6-dimetilanilina, obtido

com a *Solução (1)*, não é superior à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)*. No máximo 0,04% (400 ppm) em relação ao conteúdo de lidocaína.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de lidocaína gel*. Cada mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* SV equivale a 2,343 mg de $C_{14}H_{22}N_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE LIDOCAÍNA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$. Solução estéril de cloridrato de lidocaína em água para injetável.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume de solução injetável contendo o equivalente a 0,1 g de cloridrato de lidocaína para béquer e adicionar volume de hidróxido de sódio 5 *M* até alcalinizar a solução. Filtrar e lavar o resíduo com água. Solubilizar o resíduo em 1 mL de álcool etílico, adicionar 0,5 mL de cloreto cobaltoso a 10% (p/v) e agitar por dois minutos. Produz-se precipitado azul-esverdeado.

B. Para volume de solução injetável contendo o equivalente a 0,1 g de cloridrato de lidocaína, transferir 10 mL de ácido pícrico SR. O ponto de fusão do precipitado obtido, após lavar com água e secar a 105 °C, é em torno de 229 °C.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de 2,6-dimetilanilina. Em um volume de solução injetável contendo o equivalente a 25 mg de cloridrato de lidocaína, adicionar, se necessário, água suficiente para produzir 10 mL. Adicionar hidróxido de sódio 2 *M* até alcalinizar a solução e extrair com três porções de 5 mL de clorofórmio. Filtrar os combinados dos extratos orgânicos sob sulfato de sódio anidro e lavar o filtro com 5 mL de clorofórmio. Evaporar o filtrado até secura sob pressão de 2 kPa. Solubilizar o resíduo em 2 mL de álcool metílico, adicionar 1 mL de *p*-dimetilaminobenzaldeído a 1% (p/v) em álcool metílico, recentemente preparada, e 2 mL de ácido acético glacial. Preparar solução de 2,6-dimetilanilina da mesma maneira utilizando 10 mL de uma solução de 2,6-dimetilanilina a 0,0001% (p/v) em álcool metílico, ao invés da solução injetável. A intensidade da coloração amarela obtida no tubo da solução contendo a amostra não deve ser mais intensa do que a obtida na solução de 2,6-dimetilanilina.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 1,1 UE/mg de cloridrato de lidocaína.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Em um volume da solução injetável equivalente a 0,1 g de cloridrato de lidocaína, adicionar hidróxido de sódio 2 *M* até alcalinizar a solução, e extrair com três porções de 20 mL de clorofórmio. Lavar cada extrato orgânico com 10 mL de água (utilizar sempre os mesmos 10 mL de água). Filtrar os combinados orgânicos extraídos em filtro umedecido com clorofórmio e lavar o filtro com 10 mL de clorofórmio. Juntar os

combinados orgânicos filtrados e os de lavagem. Titular com ácido perclórico 0,02 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente ou utilizando cloreto de metilrosanilínico SI como indicador. Cada mL de ácido perclórico 0,02 *M* SV equivale a 5,416 mg de $C_{14}H_{22}N_2O$. HCl.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida entre 20 ºC e 25 ºC ± 1 ºC da temperatura selecionada; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: homogeneizar 50 mL de ácido acético glacial e 930 mL de água. Ajustar o pH para 3,4 com hidróxido de sódio *M*. Misturar quatro volumes dessa solução com um volume de acetonitrila. A composição da *Fase móvel* pode ser ajustada para que o pico da lidocaína tenha tempo de retenção entre 4 e 6 minutos.

Solução amostra: transferir volume de solução injetável equivalente a 0,1 g de cloridrato de lidocaína para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 42,5 mg de lidocaína SQR, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 25 mL e solubilizar com aquecimento, se necessário, em 0,5 mL de ácido clorídrico *M*. Completar o volume com *Fase móvel* de modo a obter solução a 1,7 mg/mL de lidocaína.

Solução de resolução: preparar solução de metilparabeno a 0,22 mg/mL utilizando *Fase móvel* como diluente. Misturar 2 mL dessa solução e 20 mL da *Solução padrão*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre lidocaína e metilparabeno é, no mínimo, 3. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}N_2O$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

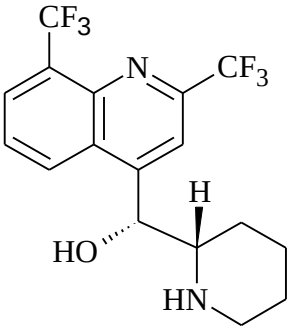
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE MEFLOQUINA

Mefloquini hydrochloridum



· HCl e enantiômero

$C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$; 414,77
cloridrato de mefloquina; 05577
Cloridrato de (*αS*)-*rel*-*α*-(2*R*)-2-piperidinil-2,8-bis-(trifluormetil)-4-quinolinametanol (1:1)
[*51773-92-3*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 259 °C a 260 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -0,2 a +0,2. Determinar em solução a 5% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de mefloquina SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos não forem idênticos, solubilizar, separadamente, padrão e amostra em álcool metílico e evaporar até a secura. Obter novos espectros com os resíduos.

B. Pesar 20 mg da amostra, acrescentar 0,2 mL de ácido sulfúrico. Desenvolve-se fluorescência azul sob luz ultravioleta (365 nm).

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. 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 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μm a 10 μm), capeada; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto. Equilibrar a coluna por 30 minutos com fluxo de 2 mL/minuto.

Fase móvel: solubilizar 1 g de brometo de tetraeptilamônio em mistura de álcool metílico, bissulfato de sódio a 0,15% (p/v) e acetonitrila (2:4:4).

Solução (1): solução da amostra a 4 mg/mL em *Fase móvel*.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (3): pesar, com exatidão, 8 mg de cloridrato de mefloquina SQR e 8 mg de sulfato de quinidina e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Solubilizar e completar o volume com *Fase móvel*. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Injetar 20 μL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,5 para quinidina e 1,0 para mefloquina. A resolução entre os picos de mefloquina e quinidina é, no mínimo, 8,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, 10 vezes o tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. A área sob qualquer pico com tempo de retenção relativo de cerca de 0,7 obtido com a *Solução (1)* não é maior que duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). A área sob qualquer pico obtido com a *Solução (1)*, exceto o pico principal e o pico com tempo de retenção relativo de cerca de 0,7 não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto o pico principal não é maior que cinco vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,2 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 3,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Solubilizar 0,3 g da amostra em 15 mL de ácido fórmico anidro e 40 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 41,477 mg de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

CLORIDRATO DE MEFLOQUINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,25 g de cloridrato de mefloquina, transferir para béquer e adicionar cinco gotas de ácido nítrico. Agitar com 50 mL de água e filtrar em papel de filtro para filtração lenta. Adicionar ao filtrado nitrato de prata SR. Forma-se precipitado branco caseoso, insolúvel em ácido nítrico, mas solúvel em ligeiro excesso de hidróxido de amônio 6 *M*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com *Meio de dissolução* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 283 nm **(5.2.14)** utilizando *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{16}F_6N_2O$. HCl dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de mefloquina SQR na concentração de 0,006% (p/v), preparada no mesmo solvente. Para assegurar a completa solubilização do cloridrato de mefloquina SQR, pode-se utilizar até 5% (v/v) de álcool metílico na primeira diluição.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ se dissolvem em 60 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de mefloquina, trasnferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 70 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com álcool metílico. Filtrar. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,004% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 283 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 283 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 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão pH 3,5: pesar 6,80 g de fosfato de potássio monobásico e transferir para balão volumétrico de 1000 mL. Solubilizar e completar o volume com água. Ajustar o pH para 3,5 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 3,5* e álcool metílico (40:60).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina, trasnferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar cerca de 80 mL de álcool metílico e deixar em ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar, descartando os primeiros 10 mL do filtrado. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 10 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão de áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

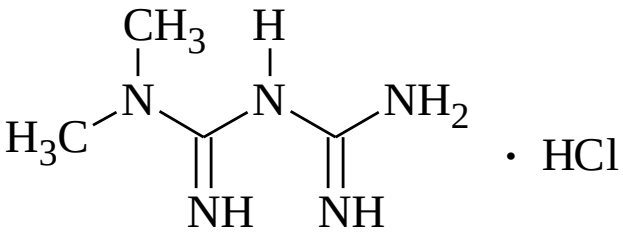
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE METFORMINA

Metformini hydrochloridum



$C_4H_{11}N_5$.HCl; 165,62
cloridrato de metformina; 05782
Cloridrato de *N*,*N*-dimetilimidodicarbonimídico diamida (1:1)
[*1115-70-4*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_4H_{11}N_5$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 222 ºC a 226 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de metformina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 218 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: solubilizar 17 g de fosfato de amônio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para 3,0 ± 0,1, com ácido fosfórico.

Solução (1): pesar, com exatidão, 20 mg de cianoguanidina SQR, transferir para balão de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 1 mL para um balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (2): pesar, com exatidão, 500 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 100 mL com *Fase móvel*. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (4): pesar, com exatidão, 10 mg de melamina, solubilizar em 90 mL de água, adicionar 5 mL da *Solução (2)* e completar o volume para 100 mL, com o mesmo solvente. Diluir 1 mL da solução obtida para 50 mL com *Fase móvel*.

Injetar 20 µL da *Solução (4)*. A resolução entre melamina e cloridrato de metformina deve ser maior que 10. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)*, da *Solução (2)* e da *Solução (3)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. O pico obtido na *Solução (2)*, correspondente a cianoguanidina, não pode ser maior que 0,02%, comparado ao pico obtido com a *Solução (1)*. Nenhuma impureza individual obtida com a *Solução (2)* poderá ser superior a 0,1%, comparada ao pico obtido com a *Solução (3)*. A soma das áreas de todos os picos obtidos com a *Solução (2)*, exceto a do pico do solvente, não é maior que a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Não considerar picos com área inferior àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (4)* (0,2%).

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Método I*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por 5 horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 60 mg da amostra previamente dessecada, solubilizar em 4 mL de ácido fórmico anidro e adicionar 50 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 8,281 mg de $C_4H_{11}N_5$.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hipoglicemiante oral.

CLORIDRATO DE METFORMINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_4H_{11}N_5$.HCl. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de metformina, solubilizar em 20 mL de álcool etílico e agitar. Filtrar, evaporar o filtrado até secura em banho-maria e dessecar o resíduo a 105 °C por uma hora. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Cloridrato de metformina*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 50 mg de cloridrato de metformina, transferir para tubo de ensaio e adicionar 10 mL de água, homogeneizar e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade do conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de água e agitar, mecanicamente, por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando água como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 232 nm **(5.2.14)**, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_4H_{11}N_5$.HCl em cada comprimido, a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,8, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 233 nm **(5.2.14)**, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_4H_{11}N_5$.HCl dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de metformina SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_4H_{11}N_5$.HCl se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Exceto para o preparo da *Solução (2)*, proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Cloridrato de metformina*. Preparar a *Solução (2)* como descrito a seguir.

Solução (2): Pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 500 mg de cloridrato de metformina, transferir para balão volumétrico de 100 mL, solubilizar com 60 mL de *Fase móvel*, agitar por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar.

Procedimento: injetar**,** separadamente**,** 20 µL da *Solução (1)*, da *Solução (2)*, da *Solução (3)* e da *Solução (4)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas de todos os picos obtidos. No máximo 0,1% de impureza individual e, no máximo 0,6% de impureza total. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 100 mg de cloridrato de metformina, trasnferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 70 mL de água. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando água como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 232 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_4H_{11}N_5$.HCl nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.**, **D.** e **E**. O teste de identificação **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.**, **C.**, **D.** e **E**.*

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 1 mL de água, agitar mecanicamente e filtrar. Transferir ao filtrado 1 mL de *p*-dimetilaminobenzaldeído 1% (p/v) em ácido clorídrico *M*. Desenvolve-se coloração amarelo-alaranjada.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico SR, resfriar a 0 °C e adicionar 1 mL de nitrito de sódio a 1% (p/v). Desenvolve-se precipitado amarelo. Adicionar 1 mL de 2-naftol SR. Produz-se precipitado vermelho-alaranjado.

E. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 10 mL de água, agitar e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL e prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*, a partir de "... adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*.".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 309 nm **(5.2.14)**, utilizando água para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de metoclopramida SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida, trasnferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, no mesmo solvente, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 309 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 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: solubilizar 2,7 g de acetato de sódio em 500 mL de água. Adicionar 500 mL de acetonitrila e 2 mL de hidróxido de tetrametilamônio a 20% (p/v) em álcool metílico. Homogeneizar. Ajustar o pH em 6,5 com ácido acético glacial.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 40 mg de cloridrato de metoclopramida, transferir para balão volumétrico de 50 mL e acrescentar 35 mL de ácido fosfórico 0,01 *M*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução padrão estoque: pesar, com exatidão, 40 mg de cloridrato de metoclopramida SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Solubilizar em ácido fosfórico 0,01 *M* e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 0,8 mg/mL.

Solução padrão: transferir 5 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução de resolução: pesar com exatidão. 12,5 mg de benzenossulfonamida e transferir para balão volumétrico de 25 mL, solubilizar em 15 mL de álcool metílico e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*. Transferir 5 mL da solução resultante e 5 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para benzenossulfonamida e 1,0 para cloridrato de metoclopramida, com resolução de, no mínimo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***B.***, ***C.***, ***D.*** *e* ***E****. O teste de identificação* ***B.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***A.***, ***C.***, ***D.*** *e* ***E.***

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Utilizar volume da solução injetável equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 1 mL de água e agitar. Adicionar 1 mL de *p*-dimetilaminobenzaldeído a 1% (p/v) em ácido clorídrico *M*. Desenvolve-se coloração amarelo-alaranjada.

D. Utilizar volume da solução injetável equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico SR, resfriar a 0 ºC e adicionar 1 mL de nitrito de sódio a 1% (p/v). Produz-se precipitado amarelo. Adicionar 1 mL de 2-naftol SR. Produz-se precipitado vermelho-alaranjado.

E. Utilizar volume da solução injetável equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 10 mL de água e agitar. A solução resultante satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,5 a 6,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 2,5 UE/mg de metoclopramida.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução injetável equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Homogeneizar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 309 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl na solução injetável, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de metoclopramida comprimidos*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir volume da solução injetável equivalente a 40 mg de cloridrato de metoclopramida para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*. Homogeneizar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.**, **D.** e **E**. O teste de identificação **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.**, **C.**, **D.** e **E.***

A. No espectro de absorção no visível **(5.2.14)**, na faixa de 400 nm a 800 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Utilizar volume da solução oral equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 1 mL de água e agitar. Adicionar 1 mL de *p*-dimetilaminobenzaldeído a 1% (p/v) em ácido clorídrico *M*. Desenvolve-se coloração amarelo-alaranjada.

D. Utilizar volume da solução oral equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico SR, resfriar a 0 °C e adicionar 1 mL de nitrito de sódio a 1% (p/v). Desenvolve-se precipitado amarelo. Adicionar 1 mL de 2-naftol SR. Desenvolve-se precipitado vermelho-alaranjado.

E. Utilizar volume da solução oral equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida. Adicionar 10 mL de água e agitar. A solução resultante satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,0 a 5,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Proceder ao abrigo da luz direta. Transferir volume da solução oral equivalente a 10 mg de cloridrato de metoclopramida para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Homogeneizar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 100 mL, acrescentar 5 mL de ácido clorídrico *M* e homogeneizar. Acrescentar 5 mL de nitrito de sódio a 1% (p/v), preparado extemporaneamente.

Misturar e deixar em repouso por 10 minutos. Acrescentar 5 mL de sulfamato de amônio a 5% (p/v), preparado extemporaneamente. Misturar e deixar em repouso por 25 minutos. Acrescentar 5 mL de dicloridrato de *N*-(1-naftil)etilenodiamina a 0,5% (p/v) em ácido clorídrico *M*, preparado extemporaneamente, homogeneizar. Completar o volume com água e deixar em repouso por cinco minutos, obtendo solução a 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 534 nm, utilizando água para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl na solução oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 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: pesar 2,7 g de acetato de sódio e solubilizar em 600 mL de água. Adicionar 400 mL de acetonitrila e 5 mL de hidróxido de tetrametilamônio a 20% (p/v) em álcool metílico. Homogeneizar. Ajustar o pH para 6,5 com ácido acético glacial.

Solução amostra: transferir volume da solução oral equivalente a 4 mg de cloridrato de metoclopramida para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*. Homogeneizar.

Solução padrão estoque: pesar, com exatidão, 40 mg de cloridrato de metoclopramida SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Solubilizar em ácido fosfórico 0,01 *M* e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 0,8 mg/mL.

Solução padrão: transferir 5 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*, de modo a obter solução padrão de cloridrato de metoclopramida a 0,16 mg/mL.

Solução de resolução: pesar, com exatidão, 0,125 g de benzenossulfonamida e trasnferir para balão volumétrico de 25 mL. Solubilizar em 15 mL de álcool metílico. Completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*. Transferir 15 mL da solução anterior e 5 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com ácido fosfórico 0,01 *M*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. O tempo de retenção relativo é cerca de 0,2 para a benzenossulfonamida e 1,0 para o cloridrato de metoclopramida. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.HCl na solução oral a partir das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

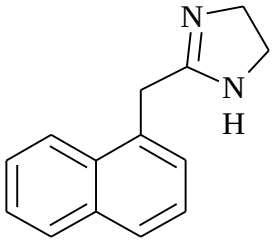
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE NAFAZOLINA

Naphazolini hydrochloridum



. HCl

$C_{14}H_{14}N_2$.HCl; 246,74
cloridrato de nafazolina; 06177
Cloridrato de 2-(naftaleno-1-ilmetil)-4,5-dihidro-1H-imidazol
[*550-99-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_{14}N_2$.HCl, em relação à base anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2).** 255 ºC a 260 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de nafazolina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 20 µg/mL em álcool metílico, exibe máximo de absorção em 280 nm idêntico ao observado no espectro de solução similar de cloridrato de nafazolina SQR.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,6. Determinar em solução aquosa a 1,0% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool metílico, ácido acético glacial e água (8:1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar 0,1 g da amostra, solubilizar em álcool metílico, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): pesar 5,0 mg de SQR, solubilizar em álcool metílico, completar o volume para 25 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com iodo metálico. Qualquer mancha secundária no cromatograma da *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com o cromatograma da *Solução (2)* (2,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,4 g da amostra, previamente dessecada, solubilizar em 50 mL de mistura de anidrido acético e ácido acético glacial (7:3). Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 24,67 mg de $C_{14}H_{14}N_2$.HCl.

B. 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, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Solução tampão: pesar 3,0 g de fosfato de potássio monobásico, transferir para balão volumétrico de 1000 mL e solubilizar em 800 mL. Adicionar 3,0 mL de trietilamina, ajustar pH com ácido fosfórico para 3,0 e completar o volume com água.

Fase móvel: mistura de *Solução tampão* e acetonitrila (80:20).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 0,2 g de amostra transferir para balão volumétrico de 200 mL, solubilizar em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, diluir e completar o volume com água e homogeneizar, para obter uma solução de 50 µg/mL de cloridrato de nafazolina.

Solução padrão: preparar, com exatidão, uma solução de 50 µg/mL de cloridrato de nafazolina SQR em água.

Injetar replicatas da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%. O fator de capacidade, é, no mínimo, 2,0. Os pratos teóricos é, no mínimo, 1500. O fator de cauda é, no máximo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{14}N_2$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas para a *Soluções padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

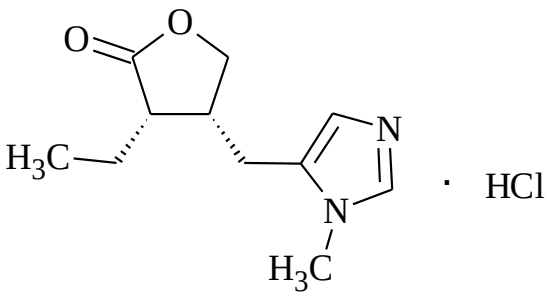
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vasoconstritor.

CLORIDRATO DE PILOCARPINA

Pilocarpini hydrochloridum



$C_{11}H_{16}N_2O_2$.HCl; 244,72
cloridrato de pilocarpina; 07050
Cloridrato de (3*S*,4*S*)-3-etildi-hidro-4-[(1-metil-1*H*imidazol- 5-il)metil]-2(3*H*)-furanona (1:1)
[*54-71-7*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{11}H_{16}N_2O_2$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco cristalino ou cristais incolores, higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 199 °C a 205 °C. O intervalo entre o início e o fim da fusão não deve exceder a 3 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +89 a +93, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2,0% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***B.*** *e* ***C****. O teste de identificação* ***B.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***A.*** *e* ***C****.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de pilocarpina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,5 a 4,5. Determinar em solução a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio concentrado, álcool metílico e cloreto de metileno (1:14:85), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 25 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar, com exatidão, 0,25 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 5 mL, solubilizar com álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com álcool metílico.

Solução (3): pesar, com exatidão, 10 mg de cloridrato de pilocarpina SQR, transferir para balão volumétrico de 2mL, solubilizar com álcool metílico e completar o volume para 2 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 10 mL com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma por 15 cm da placa, deixar secar a placa entre 100 °C e 105 °C por 10 minutos, deixar esfriar e nebulizar com iodobismutato de potássio SR e, em seguida, com peróxido de hidrogênio a 3% (p/v). Examinar sob luz visível. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (4)* (1,0%).

Ferro (5.3.2.4). Determinar em 20 mL de solução a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono. Preparar o padrão utilizando 0,1 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe)* e 5 mL de água. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar em estufa entre 100 °C e 105 °C por duas horas. No máximo 3,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, 2 g de amostra e solubilizar em 60 mL de água. Titular com hidróxido de sódio *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 244,720 mg de $C_{11}H_{16}N_2O_2$.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

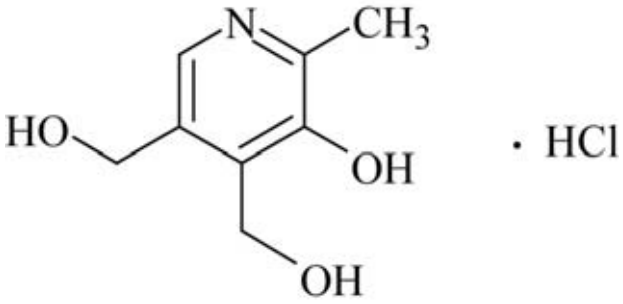
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiglaucomatoso.

CLORIDRATO DE PIRIDOXINA

Pyridoxini hydrochloridum



$C_8H_{11}NO_3$.HCl; 205,64
cloridrato de piridoxina; 07167
Cloridrato de 5-hidroxi-6-metil-3,4-piridinodimetanol (1:1)
[*58-56-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_{11}NO_3$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Ponto de fusão **(5.2.2)**: Aproximadamente 205 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**. Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de piridoxina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 350 nm, de solução a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximos entre 288 nm e 296 nm, com absorvância de 0,420 a 0,445. Na faixa de 220 nm a 350 nm, uma solução preparada pela diluição de 1 mL de solução a 0,1% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M* para 100 mL com tampão fosfato equimolar 0,025 *M*, há máximos entre 248 nm e 256 nm e entre 320 nm e 327 nm. As absorvâncias em cada máximo são de, respectivamente, 0,175 a 0,195 e 0,345 a 0,365.

C. A mancha principal do cromatograma da S*olução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a S*olução (4*).

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,4 a 3,0. Determinar em solução da amostra a 5,0% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetona, tetracloreto de carbono, tetraidrofurano e amônia 13,5 *M* (65:13:13:9), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução aquosa da amostra a 100 mg/mL.

Solução (2): solução aquosa da amostra a 10 mg/mL.

Solução (3): solução aquosa da amostra a 0,25 mg/mL.

Solução (4): solução aquosa de cloridrato de piridoxina SQR a 10 mg/mL.

Procedimento: desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de carbonato de sódio a 5% (p/v) em mistura de água e álcool etílico (70:30). Secar em corrente de ar e nebulizar com solução de 2,6-dicloroquinona-4-clorimida a 0,1% (p/v) em álcool etílico. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a S*olução (3)* (0,25%). Desconsiderar manchas remanescentes na linha de base.

Compostos fenólicos. Em tubo de ensaio, adicionar 5 mg da amostra, 0,05 mL de ácido clorídrico 3 *M*, 1 mL de água e 1 mL de cloreto férrico SR. Homogeneizar e adicionar 1 mL de ferricianeto de potássio SR. Após 2 minutos não se desenvolve coloração verde azulada.

Limite de *N*,*N*-dimetilanilina. Pesar, com exatidão, 0,5 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 25 mL e solubilizar com 20 mL de água com auxílio de aquecimento. Resfriar e transferir 2 mL de ácido acético *M* e 1 mL de nitrito de sódio a 1% (p/v). Completar o volume com água e homogeneizar. A solução não deve apresentar coloração mais intensa que solução de *N*,*N*-dimetilanilina a 0,001% (p/v) (10 ppm) preparada de maneira similar.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Determinar em 20 mL de solução da amostra a 5,0% (p/v). No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. A 0,4 g da amostra, pesada com exatidão, transferir 30 mL de ácido acético glacial e 10 mL de acetato de mercúrio SR. Se necessário, deixar em banho de ultrassom até completar a solubilização. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 20,564 mg de $C_8H_{11}NO_3$.HCl.

B. 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 (3 a 10 μm), mantida à temperatura de 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: transferir para balão volumétrico de 2 L, 20 mL de ácido acético glacial, 1,2 g de 1-hexanossulfonato de sódio, diluir com 1,4 L de água. Ajustar o pH para 3,0 com ácido acético glacial ou hidróxido de sódio *M*. Adicionar 470 mL de álcool metílico, homogeneizar e completar o volume com água. Fazer ajustes, se necessário.

Solução padrão interno: solubilizar quantidade de ácido *p*-hidroxibenzoico em *Fase móvel* de modo a obter concentração de 5 mg/mL.

Solução amostra: transferir 50 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL, solubilizar e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1 mL de *Solução padrão interno*, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução de padrão: pesar, com exatidão, 50 mg de cloridrato de piridoxina SQR, trasnferir para balão volumétrico de 100 mL, solubilizar com fase móvel, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1 mL de *Solução de padrão interno*, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A resolução entre os picos correspondentes ao cloridrato de piridoxina e ao ácido *p*-hidroxibenzoico é, no mínimo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao cloridrato de piridoxina e ao ácido *p*-hidroxibenzoico. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}NO_3$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas para a relação cloridrato de piridoxina/ácido *p*-hidroxibenzoico com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento vitamínico.

CLORIDRATO DE PIRIDOXINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de $C_8H_{11}NO_3$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de piridoxina e solubilizar em 50 mL de álcool metílico agitando, mecanicamente, por 15 minutos. Filtrar, adicionar amônia 13,5 *M* suficiente para alcalinizar o filtrado e evaporar até secura. Retomar o resíduo com 15 mL de clorofórmio e filtrar. Ao filtrado gotejar 2 mL de cloreto de acetila, transferir 8 mL de álcool metílico e evaporar até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de piridoxina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de piridoxina, adicionar 50 mL de tampão fosfato 0,025 *M* e agitar por 15 minutos. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com tampão fosfato 0,025 *M*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** dessa solução, na faixa de 230 nm a 350 nm, há máximos de absorção em 254 nm e 324 nm.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de piridoxina, homogeneizar com 5 mL de água e filtrar para tubo de ensaio. Adicionar duas a três gotas de cloreto férrico SR. Desenvolve-se coloração laranja-avermelhada.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato de piridoxina, trasnferir para béquer, homogeneizar com 50 mL de água e deixar em repouso até decantação. A 1 mL do sobrenadante, transferir 10 mL de acetato de sódio a 5% (p/v), 1 mL de água, 1 mL de 2-6-dicloroquinona-4-clorimida a 0,5% (p/v) em álcool etílico e homogeneizar. Desenvolve-se coloração azul, com rápida passagem para marrom. Repetir a operação adicionando 1 mL de ácido bórico a 0,3% (p/v) no lugar da água. Não produz coloração azul.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 500 mL contendo 300 mL de água, aguardar desintegração e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar descartando os primeiros 25 mL do filtrado. A partir do filtrado, fazer diluições adequadas com ácido clorídrico a 1% (v/v) de modo a obter concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução de cloridrato de piridoxina SQR na mesma concentração da solução amostra, usando o mesmo solvente. Determinar as absorvâncias das soluções em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido

clorídrico a 1% (v/v) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}NO_3$.HCl em cada comprimido, a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}NO_3$. HCl dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a de solução de cloridrato de piridoxina SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_{11}NO_3$.HCl se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetona, tetracloreto de carbono, tetraidrofurano e amônia 13,5 *M* (65:13:13:9), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 40 mg de cloridrato de piridoxina, homogeneizar com 10 mL de água por 15 minutos, filtrar e usar o filtrado.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 200 mL com água.

Procedimento: desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com carbonato de sódio decaidratado a 5% (p/v) em mistura de álcool etílico e água (30:70). Secar em corrente de ar e nebulizar com 2-6-dicloroquinona-4-clorimida a 0,1% (p/v) em álcool etílico. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).
TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 25 mg de cloridrato de piridoxina e acrescentar 50 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Aquecer em banho-maria por 15 minutos, agitando ocasionalmente. Resfriar, diluir para 100 mL com ácido clorídrico 0,1 *M* e filtrar, descartando os primeiros 20 mL. Diluir 5 mL do filtrado para 100 mL com ácido clorídrico 0,1 *M*. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para

ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}NO_3$.HCl nos comprimidos, a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 430, em 290 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

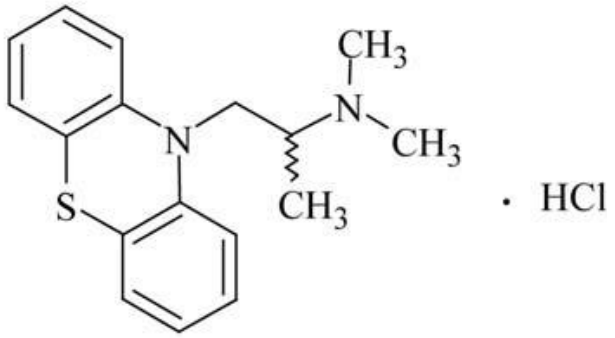
Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE PROMETAZINA

Promethazini hydrochloridum



$C_{17}H_{20}N_2S.HCl$; 320,88
cloridrato de prometazina; 07431
Cloridrato de *N*,*N*,*α*-trimetil-10*H*-fenotiazina-10-etanamina (1:1)
[*58-33-3*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino, de coloração branca a levemente amarelada.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Ponto de fusão **(5.2.2)**: Aproximadamente 222 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de prometazina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações de identificação de fenotiazinas **(5.3.1.5)**.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 10,0% (p/v) recém-preparada.

Substâncias relacionadas. Proceder ao teste para *Substâncias relacionadas à fenotiazinas* **(5.3.1.6)**, usando *Fase móvel B* e aplicar separadamente à placa 10 µL de cada uma das três soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 2,0% (p/v) da amostra em mistura de dietilamina e álcool metílico (5:95).

Solução (2): solução a 0,02% (p/v) de cloridrato de isoprometazina SQR no mesmo solvente.

Solução (3): solução a 0,01% (p/v) de cloridrato de prometazina SQR no mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nenhuma mancha de isoprometazina no cromatograma obtida com a *Solução (1)* é mais intensa que aquelas obtidas com a *Solução (2)* (1%). Nenhuma outra mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é mais intensa que aquelas obtidas com a *Solução (3)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa de 100 ºC a 105 ºC, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, 0,25 g, da amostra e solubilizar em mistura de 5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e 50 mL de álcool etílico. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, determinando o volume gasto entre os dois pontos de inflexão potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV corresponde a 32,088 mg de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$.

B. Pesar, com exatidão, 700 mg da amostra e solubilizar em uma mistura de 75 mL de ácido acético glacial e 10 mL de solução de acetato de mercúrio SR. Adicionar uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até coloração azul-esverdeado. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 32,090 mg de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiemético, anti-histamínico.

CLORIDRATO DE PROMETAZINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 40 mg de cloridrato de prometazina, adicionar 10 mL de água e 2 mL de hidróxido de sódio *M*, agitar e extrair com 15 mL de éter etílico. Lavar o extrato etéreo com 5 mL de água, secar com sulfato de sódio anidro, evaporar à secura e solubilizar o resíduo em 0,4 mL de clorofórmio. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de prometazina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. À quantidade de pó de comprimidos, contendo 5 mg de cloridrato de prometazina, transferir 5 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por cinco minutos. Desenvolve-se coloração vermelha.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar imediatamente e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 249 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a solução de cloridrato de prometazina SQR, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Pesquisa de impurezas relacionadas a fenotiazinas por cromatografia em camada delgada* **(5.3.1.6)**, utilizando a *Fase móvel B* e aplicando, separadamente, à placa 20 µL de cada uma das seguintes soluções, preparadas imediatamente antes do uso. Desnecessária a operação sob atmosfera de nitrogênio.

Solução (1): extrair quantidade do pó de comprimidos, equivalente a 0,1 g de cloridrato de prometazina com 10 mL de mistura dietilamina e álcool metílico (5:95) e filtrar.

Solução (2): solução a 0,01% (p/v) de cloridrato de isoprometazina SQR em mistura de dietilamina e álcool metílico (5:95).

Solução (3): diluir um volume da *Solução (1)* para 200 volumes com mistura dietilamina e álcool metílico (5:95).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nenhuma mancha correspondente a isoprometazina no cromatograma obtido com a *Solução (1)* é mais intensa que qualquer outra obtida com a *Solução (2)* (1%). Nenhuma outra mancha secundária é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (3)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Realizar o doseamento ao abrigo da luz. Pulverizar 20 comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de prometazina, adicionar 10 mL de ácido clorídrico 2 *M*, 200 mL de água purificada, agitar por 15 minutos, completar o volume para 500 mL com água purificada e centrifugar 50 mL da mistura. A 5 mL do sobrenadante claro e límpido, adicionar 10 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e completar o volume para 100 mL com água purificada. Preparar solução de cloridrato de prometazina SQR na mesma concentração, em ácido clorídrico 0,01 *M*. Medir as absorvâncias **(5.2.14)** das soluções resultantes em 249 nm, utilizando ácido clorídrico 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas, com as soluções padrão e amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE PROMETAZINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **C.***

A. Medir o volume da solução injetável equivalente a 25 mg de cloridrato de prometazina e completar para 50 mL com ácido sulfúrico 0,5 *M*. Diluir 5 mL para 100 mL com o mesmo solvente. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** há máximos e mínimos nos mesmos comprimentos de onda que a solução similar de cloridrato de prometazina SQR.

B. Transferir, lentamente, 2 mL de ácido sulfúrico ao volume da solução contendo 5 mg de cloridrato de prometazina e deixar em repouso por cinco minutos. Produz-se cor vermelha.

C. Satisfaz às reações de íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 6,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e uma mistura de dietilamina, hexano e acetona (15:45:50) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): diluir volume da solução injetável com mistura dietilamina e álcool metílico (5:95) até obter solução de cloridrato de prometazina a 1,0% (v/v).

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 200 mL com a mistura de dietilamina e álcool metílico (5:95).

Solução (3): preparar solução de cloridrato de isoprometazina SQR a 0,01% (v/v) com a mistura dietilamina e álcool metílico (5:95).

Solução (4): preparar solução de sulfóxido de prometazina SQR a 0,025% (v/v) com a mistura de dietilamina e álcool metílico (5:95).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido perclórico a 20% (v/v). Aquecer a placa a 100 °C por cinco minutos. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, qualquer mancha correspondente à isoprometazina não é mais intensa do que a mancha principal no cromatograma obtido com a *Solução (3)* (1,0%). Qualquer mancha correspondente ao sulfóxido de prometazina não é mais intensa do que a mancha no cromatograma obtido com a *Solução (4)* (2,5%), e qualquer outra mancha secundária não é mais intensa do que a mancha no cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,5%). Desconsiderar qualquer mancha restante na linha de aplicação.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 5,0 UE/mg de cloridrato de prometazina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**, protegendo da luz. Transferir volume da solução injetável equivalente a 25 mg de cloridrato de prometazina para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,01 *M*. Diluir 10 mL para 100 mL com ácido clorídrico 0,01 *M* e, em seguida, diluir 10 mL para 50 mL com o mesmo solvente, obtendo concentração de 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias da solução em 249 nm, utilizando ácido clorídrico 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ na solução injetável a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

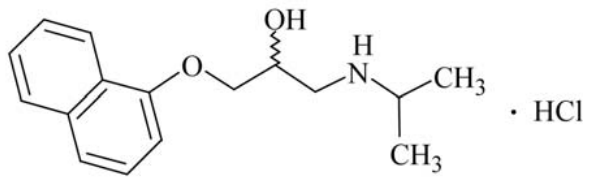
Em recipiente de vidro tipo I, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE PROPRANOLOL

Propranololi hydrochloridum



$C_{16}H_{21}NO_2.HCl$; 295,80
cloridrato de propranolol; 07482
Cloridrato de 1-[(1-metiletil)amino]-3-(1-naftaleniloxi)-2-propanol (1:1)
[*318-98-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,5% de $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração branca ou quase branca, de aspecto cristalino ou amorfo.

Solubilidade. Solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 163 ºC a 166 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: –1,0 a +1,0. Determinar em solução aquosa a 4,0% (p/v) da substância dessecada.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**. Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de propranolol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,004% (p/v) em álcool metílico, há máximos de absorção em 290 nm, 306 nm e 319 nm. As absorvâncias são de, aproximadamente, 0,84, 0,50 e 0,30, respectivamente.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF254, como suporte, e mistura de álcool metílico e amônia *SR* (99:1) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em álcool metílico.

Solução (2): solução a 10 mg/mL de cloridrato de propranolol SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar a placa com uma mistura de anisaldeído, ácido acético glacial, álcool metílico e ácido sulfúrico (0,5:10:85:5). Secar entre 100 ºC e 105 ºC. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 1,0% (p/v).

Acidez e alcalinidade. Pesar 0,2 g da amostra, solubilizar em água isenta de dióxido de carbono e completar para 20 mL com o mesmo solvente. Adicionar 0,2 mL de vermelho de metila SI e 0,2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. A solução é vermelha. Adicionar 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*. A solução é amarela.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF254, como suporte, e mistura de tolueno e álcool metílico (90:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 100 mg/mL da amostra em álcool metílico.

Solução (2): solução a 0,2 mg/mL da amostra em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar a placa com uma mistura de anisaldeído, ácido acético glacial, álcool metílico e ácido sulfúrico (0,5:10:85:5). Secar entre 100 ºC e 105 ºC. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Metais pesados (5.3.2.3). No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,5 g da amostra e solubilizar em mistura de 50 mL de ácido acético glacial e 10 mL de acetato de mercúrio SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente ou utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL do ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 29,580 mg de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 290 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: pesar 0,5 g de laurilsulfato de sódio e solubilizar em 18 mL de ácido fosfórico 0,15 *M*, adicionar 90 mL de acetonitrila, 90 mL de álcool metílico e diluir com água para 250 mL.

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 50 mL, solubilizar com 45 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 50 mg de cloridrato de propranolol SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL, solubilizar com álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução de resolução: preparar solução a 0,25 mg/mL de cloridrato de procainamida em álcool metílico. Transferir 5 mL desta solução e 5 mL da *Solução padrão* para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos correspondentes à procainamida e ao cloridrato de propranolol é, no mínimo, 2,0. O fator de cauda do pico correspondente ao cloridrato de propranolol é, no máximo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a S*olução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo, antiarrítmico, antianginoso.

CLORIDRATO DE PROPRANOLOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de propranolol, suspender em água e filtrar. Transferir o filtrado para funil de separação, alcalinizar com hidróxido de sódio *M* e extrair com três volumes de 10 mL de éter etílico. Lavar os extratos combinados com água até neutralizar. Filtrar sobre sulfato de sódio anidro, evaporar o filtrado e secar o resíduo à pressão reduzida a 50 °C por uma hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles obtidos no espectro do resíduo obtido após tratamento idêntico realizado com 0,1 g do cloridrato de propranolol SQR.

B. O ponto de fusão do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* é de, aproximadamente, 94 °C **(5.2.2)**.

C. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, o equivalente a 20 mg de cloridrato de propranolol, transferir para balão volumétrico de 50 mL com o auxílio de 15 mL de água e agitar mecanicamente por 10 minutos. Adicionar 25 mL de álcool metílico e agitar por 10 minutos, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Utilizar a solução a 0,04% (p/v) para proceder conforme o teste **B.** de *Identificação* na monografia de *Cloridrato de propranolol*.

D. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas*. A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

E. Suspender em água quantidade de pó dos comprimidos equivalente a 0,1 g de cloridrato de propranolol. Agitar e filtrar em papel de filtro adequado. O filtrado satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo 30 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Pesar, individualmente, e transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v), agitar até desintegração do comprimido. Adicionar 70 mL de álcool metílico e submeter ao banho de ultrassom por um minuto. Completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em papel de filtro adequado, desprezando os primeiros mililitros. Diluir o filtrado até concentração de 0,004% (p/v). Preparar solução metanólica a 0,004% (p/v) de cloridrato de propranolol SQR e medir as absorvâncias

das soluções resultantes em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade individual de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico a 1% (v/v), 1000 mL.
Aparelhagem: cesta, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquotas do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico a 1% (v/v), até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 289 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de propranolol SQR na concentração de 0,004% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)** utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de tolueno, álcool metílico e amônia concentrada (80:20:1) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, respectivamente, 100 µL, 20 µL e 100 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1% (p/v) de cloridrato de propranolol SQR em álcool metílico.

Solução (2): solução a 0,02% (p/v) cloridrato de propranolol SQR em álcool metílico.

Solução (3): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de propranolol, transferir para balão volumétrico de 5 mL, completar com álcool metílico, homogeneizar e filtrar, obtendo solução a 1% (p/v).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar, examinar sub luz ultravioleta (254 nm) e marcar as manchas. Nebulizar com solução contendo anisaldeído, ácido acético glacial, álcool metílico e ácido sulfúrico (0,5:10:85:5). Secar entre 100 °C e 105 °C. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (3)* não é maior ou mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (2)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 20 mg de cloridrato

de propranolol, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 20 mL de água e agitar mecanicamente por 10 minutos. Adicionar 50 mL de álcool metílico e agitar por 10 minutos, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Transferir, quantitativamente, 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL, completando o volume com álcool metílico. Preparar solução a 0,004% (p/v) de cloridrato de propranolol SQR em álcool metílico e medir as absorvâncias das soluções em 290 nm, utilizando álcool metílico como branco. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Prosseguir conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* na monografia de *Cloridrato de propranolol*. Preparar a solução amostra como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar, no mínimo, 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de propranolol, transferir para balão volumétrico de 50 mL com o auxílio de 40 mL de álcool metílico, agitar e deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL da solução anterior para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em membrana de 0,45 μm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

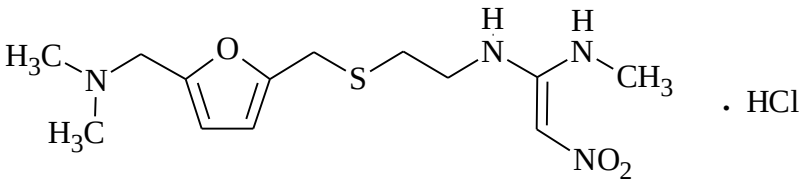
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE RANITIDINA

Ranitidini hydrochloridum



$C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$; 350,86
cloridrato de ranitidina; 07639
Cloridrato de *N*'-[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-*N*-metil-2-nitro-1,1-etenodiamina (1:1)
[*66357-59-3*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca a amarelo-pálida, sensível à umidade. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel ácido acético.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 60 ºC sob pressão reduzida, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de ranitidina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em água destilada, há máximos em 229 nm e 315 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 229 nm e em 315 nm está compreendida entre 1,01 e 1,07.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 6,0. Determinar em solução a 1,0% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo 0,75%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,28 g da amostra e solubilizar em 35 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 35,087 mg de $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 40 mL de água, agitar e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em água, até concentração de 0,00125% (p/v). Preparar solução padrão nas mesmas condições utilizando quantidade suficiente de cloridrato de ranitidina SQR. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 314 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antagonista do receptor H2.

CLORIDRATO DE RANITIDINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção em 229 nm e 315 nm idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal obtido com a *Solução amostra* obtida no método **B.** de *Doseamento* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,1 g de ranitidina e agitar com 2 mL de água e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 314 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de ranitidina SQR na concentração de 0,00125% (p/v), preparada com o mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Por *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,125 g de ranitidina, transferir para balão volumétrico de 250 mL, diluir com 150 mL de água, agitar mecanicamente por 30 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Diluir sucessivamente, até concentração de 0,00125% (p/v). Preparar a solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 314 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 275 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 1,7 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e acetato de amônio 0,1 *M* (85:15).

Solução amostra: Pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó, transferir para balão volumétrico adequado com o auxílio de *Fase móvel*, agitar, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado quantitativamente com a *Fase móvel* até obter solução de concentração semelhante à da *Solução padrão*.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de ranitidina SQR na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,112 mg/mL, equivalente a 0,1 mg/mL de ranitidina.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da S*olução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra***.**

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

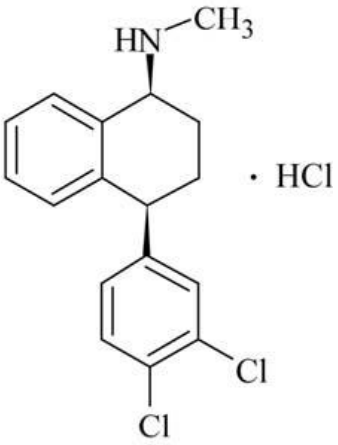
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE SERTRALINA

Sertralini hydrochloridum



$C_{17}H_{17}Cl_2N.HCl$; 342,69
cloridrato de sertralina; 07964
Cloridrato de (1*S*,4*S*)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4- tetraidro-*N*-metil-1-naftalenamina (1:1)
[*79559-97-0*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{17}H_{17}Cl_2N.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e em álcool isopropílico. Ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 243 ºC a 245 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +37,0 a +42,0, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2,0% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**. Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de sertralina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximos em 266 nm, 274 nm e 282 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2,0 g da amostra, em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,4 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e solubilizar com 80 mL de ácido acético glacial. Acrescentar 10 mL de acetato de mercúrio SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador, até mudança de cor para verde-azulado. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 34,269 mg de $C_{17}H_{17}Cl_2N.HCl$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 0,5 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 200 mL. Transferir 100 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir, em álcool metílico, até concentração de 0,025% (p/v). Preparar solução padrão nas mesmas condições utilizando quantidade suficiente de cloridrato de sertralina SQR. Medir as absorbâncias das soluções resultantes em 274 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{17}Cl_2N.HCl$ na amostra a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 125 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 3,0: pesar 2,27 g de fosfato de sódio monobásico, solubilizar em 950 mL de água, ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico e completar o volume para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de acetonitrila, álcool metílico e *Tampão fosfato pH 3,0* (30:60:10).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 50 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 0,5 mg/mL.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de sertralina SQR em álcool metílico e diluir com o mesmo solvente de modo a obter uma solução a 0,5 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{17}Cl_2N$. HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CLORIDRATO DE SERTRALINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{17}Cl_2N$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção em 266 nm, 274 nm e 282 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL e solubilizar em 60 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por 20 minutos. Após a desintegração total do comprimido, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração aproximada de 0,02% (p/v) de cloridrato de sertralina. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 274 nm **(5.2.14)**, utilizando álcool metílico para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{17}C_{l2}N$ em cada comprimido a partir das respostas obtidas para as soluções padrão e amostra.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão acetato de sódio pH 4,5; 900 mL.
Aparelhagem: pás; 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias em 274 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{17}C_{l2}N$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de sertralina SQR na concentração de 0,005% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{17}C_{l2}N$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,5 g de cloridrato de sertralina e transferir para balão volumétrico de 200 mL. Prosseguir conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de sertralina*, a partir de "Adicionar 100 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom...".

B. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento* da monografia de *Cloridrato de sertralina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de sertralina, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 50 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{17}Cl_2N$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE SIBUTRAMINA MONOIDRATADA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{26}ClN.HCl.H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Filtrar parte da primeira solução da amostra obtida no *Doseamento*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução diluída a 0,001% (p/v) de cloridrato de sibutramina em álcool metílico, exibe máximo de absorção em 223 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de cloridrato de sibutramina SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 500 mL.
Aparelhagem: cesta, 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar imediatamente e proceder conforme descrito em *Doseamento*, com as seguintes alterações.

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar imediatamente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 20 mg de cloridrato de sibutramina SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico. Diluir, sucessivamente, até as concentrações de 20 µg/mL (para cápsulas com concentração de 10 mg) ou 30 µg/mL (para cápsulas com concentração de 15 mg) com o meio de dissolução.

Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{29}Cl_2NO$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Soluções padrão* e *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{29}Cl_2NO$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 223 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico, água e trietilamina (80:20:0,5). Ajustar o pH da mistura para 5,65 com ácido fosfórico.

Solução padrão: preparar solução de cloridrato de sibutramina SQR a 30 µg/mL em álcool metílico.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 20 mg de cloridrato de sibutramina para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de álcool metílico. Agitar por 30 minutos, levar ao banho ultrassônico por mais 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Centrifugar uma porção da solução resultante por cinco minutos. Transferir 1,5 mL do sobrenadante para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{29}Cl_2NO$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

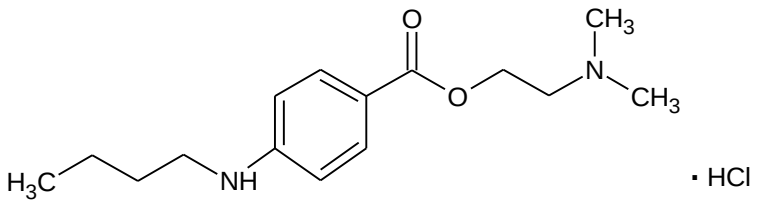
Em recipientes bem-fechados.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLORIDRATO DE TETRACAÍNA

Tetracaini hydrochloridum



$C_{15}H_{24}N_2O_2$.HCl; 300,82
cloridrato de tetracaína; 08463
Cloridrato de 4-butilaminobenzoato de 2-dimetilaminoetila
[*136-47-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{15}H_{24}N_2O_2$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca. Higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool etílico a 96% (v/v).

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: funde em torno de 148 °C. Pode ocorrer o aparecimento de outras duas formas cristalinas, com ponto de fusão 134 °C e 139 °C. A mistura dessas formas funde entre 134 °C e 147 °C.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **B.** *pode ser omitido se foram realizados os testes* **A.**, **C.** *e* **D.** *O teste de identificação* ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***B.***, ***C.*** *e* ***D.***

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tetracaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de cloridrato de tetracaína e solubilizar em água. Completar o volume para 250 mL com o mesmo solvente. Transferir 5,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100,0 mL, adicionar 2 mL de *Tampão fosfato pH 6,0*, completar o volume com água e homogeneizar. Realizar o mesmo procedimento para o preparo da *Solução padrão*. As absorvâncias a 310 nm, calculadas nas amostras dessecadas, não diferem entre si em mais de 2,0%.

C. Solubilizar 1,0 g de cloridrato de tetracaína em 10 mL de água e adicionar 1 mL de *tiocianato de amônio SR*. Um precipitado cristalino branco é formado. Recristalizar o precipitado e secar a 80 °C por duas horas. O sólido obtido funde em torno de 131 °C.

D. A solução de 100 mg de cloridrato de tetracaína em 5 mL de água satisfaz às reações de íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação de cloridrato de tetracaína a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 4,5 a 6,5. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e isopropilamina (98:7:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução teste: solução aquosa de cloridrato de tetracaína a 50 mg/mL.

Solução padrão: solução metanólica de ácido 4-(butilamino)benzoico a 0,2 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma por três quartos da altura da placa. Remover a placa e secar a placa sob corrente de ar quente e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução teste*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução padrão* (0,4%) e a soma das intensidades de todas as manchas secundárias presentes é, no máximo, 0,8%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar solução de cloridrato de tetracaína a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados – Método I* utilizando *Solução padrão de chumbo (1 ppm Pb)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C até peso constante. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Solubilizar 250 mg de cloridrato de tetracaína em 50 mL de álcool etílico a 96% (v/v) e adicionar 5,0 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Colocar em banho de ultrassom por cerca de dois minutos. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Determinar o ponto final potenciometricamente entre os dois pontos de inflexão. Fazer prova em branco e correções, se necessário. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* equivale a 30,08 mg de cloridrato de tetracaína.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados protegidos da luz.

ROTULAGEM

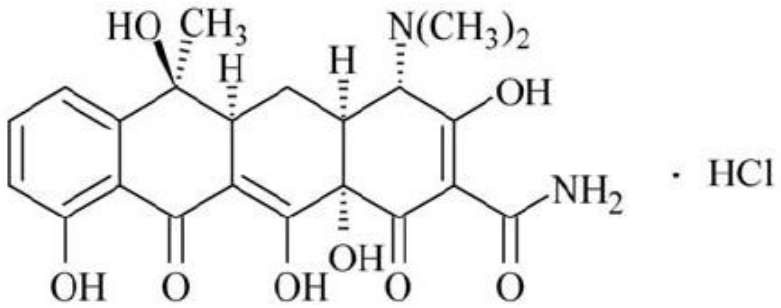
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local.

CLORIDRATO DE TETRACICLINA

Tetracyclini hydrochloridum



$C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl; 480,90
cloridrato de tetraciclina; 08465
Cloridrato de (4*S*,4a*S*,5a*S*,6*S*,12a*S*)-4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octaidro-3,6,10,12,12a-pentaidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida (1:1)
[*64-75-5*]

Contém, no mínimo, 950 µg e, no máximo, 1020 µg de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl por miligrama, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração amarela e levemente higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -240 a -255. Determinar em solução a 1,0% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D.** O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tetraciclina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,002% (p/v) em hidróxido de sódio 0,25 *M*, exibe máximo em 380 nm. A absorvância em 380 nm, em relação à substância dessecada, é de 96% a 104% da absorvância obtida com solução de cloridrato de tetraciclina SQR preparada nas mesmas condições. A determinação deve ser feita seis minutos após a preparação da solução final.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 1,8 a 2,8. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Limite de cloridrato de 4-epianidrotetraciclina. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução amostra* descrita no método **C.** de *Doseamento.*

Solução (2): solução de cloridrato de 4-epianidrotetraciclina SQR a 2 µg/mL em *Fase móvel*.

Injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área de qualquer pico correspondente à 4-epianidrotetraciclina no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é superior à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)*. No máximo 2,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,005% (50 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida de não mais que 5 mm de Hg, por três horas, até peso constante. No máximo 2,0%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3.1)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril para padronização do inóculo e meio de cultura nº 1 para camada base e para preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, 20 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Agitar, completar o volume da solução com o mesmo solvente. Diluir para obter concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL e 8 µg/mL, utilizando água estéril.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 20 mg de cloridrato de tetraciclina SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Agitar, completar o volume da solução com o mesmo solvente. Diluir para obter concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL e 8 µg/mL, utilizando água estéril.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura nº 1 em cada placa e esperar solidificar. Adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. **B**. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Preparar solução a 0,05% (p/v) da amostra em ácido clorídrico 0,01 *M*. Preparar solução padrão na mesma

concentração, utilizando o mesmo solvente. Diluir 3 mL de cada solução para 100 mL com hidróxido de sódio 0,25 *M*. Homogeneizar e deixar em repouso por seis minutos. Preparar branco em paralelo diluindo 3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* para 100 mL com hidróxido de sódio 0,25 *M*. Medir as absorvâncias das soluções em 380 nm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl na amostra a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 365 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,5 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido oxálico 0,01 *M*, álcool metílico e acetonitrila (70:20:10).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 70 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir alíquota equivalente a 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 25 mg de cloridrato de tetraciclina SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL com o auxílio 35 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir alíquota equivalente a 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Solução de resolução: preparar, com exatidão, solução contendo cloridrato de tetraciclina SQR a 100 µg/mL e cloridrato de 4-epianidrotetraciclina SQR a 25 µg/mL utilizando *Fase móvel* como solvente.

Injetar 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre 4-epianidrotetraciclina e tetraciclina é, no mínimo, 2. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Soluções padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CLORIDRATO DE TETRACICLINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 125,0% da quantidade declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

A. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas e pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 25 mg de cloridrato de tetraciclina, transferir 25 mL de álcool metílico e deixar em repouso por 20 minutos. Filtrar e evaporar o filtrado em banho-maria até resíduo. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, dessecado em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, até peso constante e disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tetraciclina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Transferir a 2 mg do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação*, 5 mL de ácido sulfúrico. Produz-se coloração violeta avermelhada. A adição de 2,5 mL de água a essa solução torna a coloração amarela.

D. O resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo 45 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos (90 minutos para cápsulas de 500 mg)

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 276 nm **(5.2.14)**, utilizando água para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de tetraciclina SQR na concentração de 0,0015% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl se dissolvem em 60 minutos (90 minutos para cápsulas de 500 mg).

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de cloridrato de 4-epianidrotetraciclina. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir

Solução (1): utilizar a solução amostra descrita no método **C.** de *Doseamento.*

Solução (2): solução de cloridrato de 4-epianidrotetraciclina SQR a 10 µg/mL em *Fase móvel*.

Injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área de qualquer pico correspondente à 4-epianidrotetraciclina no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é superior à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)*. No máximo 3,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida de, no máximo, 5 mmHg, por três horas e até peso constante. No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura nº 1 para manutenção do micro-organismo, solução salina estéril para padronização do inóculo e meio de cultura nº 1 para camada base e para preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, 20 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Agitar, completar o volume da solução com o mesmo solvente. Diluir para obter concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL e 8 µg/mL, utilizando água estéril.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 20 mg de cloridrato de tetraciclina SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Agitar, completar o volume da solução com o mesmo solvente. Diluir para obter concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL e 8 µg/mL, utilizando água estéril.

Procedimento: transferir 20 mL de meio de cultura nº 1 em cada placa e esperar solidificar. Transferir 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar* **(5.5.3.3)**, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de cloridrato de tetraciclina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Preparar solução a 0,05% (p/v) da amostra em ácido clorídrico 0,01 *M*. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Diluir 3 mL de cada solução para 100 mL com hidróxido

de sódio 0,25 *M*. Homogeneizar e deixar em repouso por seis minutos. Preparar branco em paralelo diluindo 3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* para 100 mL com hidróxido de sódio 0,25 *M*. Medir as absorvâncias das soluções em 380 nm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl nas cápsulas, em μg por miligrama, a partir da potência do padrão e das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 365 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,5 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido oxálico 0,01 *M*, álcool metílico e acetonitrila (70:20:10).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 70 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir alíquota equivalente a 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 25 mg de cloridrato de tetraciclina SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL com o auxílio de 35 mL de *Fase móvel*, deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir alíquota equivalente a 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Solução de resolução: preparar, com exatidão, solução contendo cloridrato de tetraciclina SQR a 100 μg/mL e cloridrato de 4-epianidrotetraciclina a 25 μg/mL utilizando como solvente a *Fase móvel*.

Injetar 20 μL da *Solução de resolução*. A resolução entre 4-epianidrotetraciclina e tetraciclina é, no mínimo, 2. Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL das *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

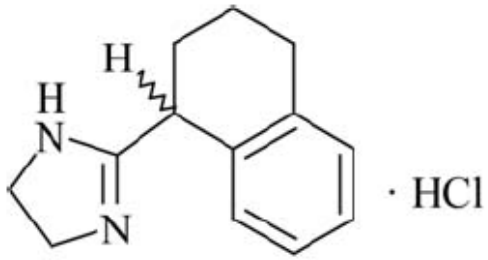
Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE TETRIZOLINA

Tetryzolini hydrochloridum



$C_{13}H_{16}N_2$.HCl; 236,74
cloridrato de tetrizolina; 08484
Cloridrato de 4,5-di-hidro-2-(1,2,3,4-tetraidro-1-naftalenil)- 1*H*-imidazol (1:1)
[*522-48-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{13}H_{16}N_2$.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 253 °C a 259 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tetrizolina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,025% (p/v) em água, há máximos em 264 nm e 271 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de cloridrato de tetrizolina SQR.

C. A solução aquosa a 0,5% (p/v) satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Pesar 0,4 g da amostra e solubilizar em 23 mL de água e 2 mL de ácido acético diluído. No máximo 0,005% (50 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g de amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e solubilizar em 60 mL de ácido acético glacial, com aquecimento, se necessário. Adicionar 5 mL de anidrido acético, 5 mL de acetato de mercúrio SR e 1 gota de vermelho de quinaldina SI. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer a correção necessária. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 23,674 mg de $C_{13}H_{16}N_2$.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

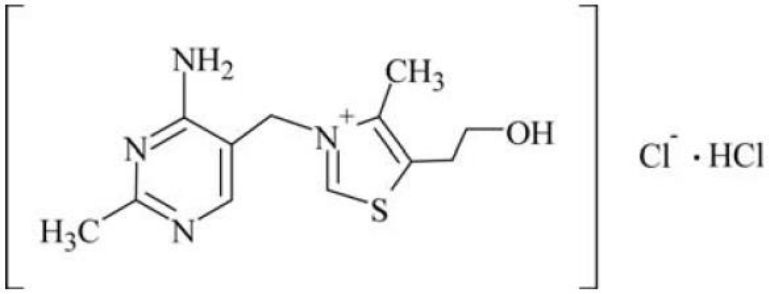
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adrenérgico (nasal).

CLORIDRATO DE TIAMINA

Thiamini hydrochloridum



$C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$; 337,27
cloridrato de tiamina; 08511
Cloridrato do cloreto de 3-[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil) metil]-5-(2-hidroxietil)-4-metil-tiazólio (1:1:1)
[*67-03-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou cristais de coloração branca. Quando exposto ao ar, absorve rapidamente cerca de 4% de água.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em glicerol, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 105 ºC por duas horas, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tiamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,7 a 3,4. Determinar em solução aquosa a 1,0% (p/v).

Absorção de luz. A absorvância da solução aquosa a 10% (p/v), após filtração em funil sinterizado de porosidade fina, medida em 400 nm, não excede a 0,025.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*, exceto por utilizar fluxo da *Fase móvel* de 0,75 mL/minuto. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar, 10 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 1,0 mg/mL.

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução amostra* e registrar o cromatograma por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico principal. Medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos secundários é, no máximo, 1,0% do total das áreas de todos os picos presentes no cromatograma. Não considerar picos relativos ao solvente.

Nitrato. A 2 mL de solução aquosa a 2% (p/v), transferir 2 mL de ácido sulfúrico, resfriar e transferir 2 mL de sulfato ferroso SR. Nenhum anel castanho é produzido na junção das duas camadas.

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo 0,03% (300 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,4 g da amostra. No máximo 5,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,15 g da amostra e solubilizar com 5 mL de ácido fórmico anidro. Adicionar 65 mL de ácido acético glacial e, com agitação, 10 mL de acetato mercúrico SR. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 16,864 mg de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4 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 1 mL/minuto.

Solução A: solução de 1-octanossulfonato de sódio a 0,005 *M* em ácido acético 1% (v/v).

Solução B: mistura de álcool metílico e acetonitrila (3:2).

Fase móvel: mistura de *Solução A* e *Solução B* (60:40).

Solução padrão interno: transferir 2 mL de benzoato de metila para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução amostra: pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução previamente preparada e 5 mL da *Solução padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de tiamina SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 1 mg/mL. Transferir 20 mL da solução previamente preparada e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

A eficiência da coluna para o pico correspondente à tiamina é, no mínimo, 1500 pratos teóricos/coluna. O fator de cauda do pico correspondente à tiamina é, no máximo, 2,0. A resolução entre os picos correspondentes à tiamina e ao benzoato de metila é, no mínimo, 4,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à tiamina e ao benzoato de metila. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ na amostra, a partir das respostas obtidas para a relação tiamina/benzoato de metila com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos, bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina do complexo B.

CLORIDRATO DE TIAMINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal obtido com a *Solução amostra,* obtida no método de *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar quantidade de pó equivalente a 10 mg de cloridrato de tiamina, solubilizar em 10 mL de água e filtrar. Separar duas porções de 2 mL do filtrado. Transferir solução de iodo a 1,27% (p/v) à primeira porção do filtrado. Produz-se um precipitado marrom-avermelhado. Transferir cloreto mercúrico SR à segunda porção do filtrado. Produz-se um precipitado branco que satisfaz ao teste para cloretos **(5.3.1.1.)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com o *Meio de dissolução,* até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 246 nm **(5.2.14.)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a solução de cloridrato de tiamina SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada com o mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 150 mg de tiamina e solubilizar, com agitação, com o auxílio de 5 mL de ácido fórmico anidro, 65 mL de ácido acético glacial e 10 mL de acetato de mercúrio a 6% (p/v) em ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV corresponde a 16,860 mg de $C_{12}H_{17}ClN_4OS{\cdot}HCl$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 246 nm; coluna de 125 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: pesar 1 g de heptanossulfonato de sódio e solubilizar em uma mistura de 180 mL de álcool metílico e 10 mL de trietilamina. Completar o volume para 1000 mL com água e ajustar o pH para 3,2 com ácido fosfórico.

Solução padrão: contém cloridrato de tiamina SQR a 0,06 mg/mL em ácido clorídrico 0,005 *M*.

Solução amostra: para comprimidos contendo menos de 10 mg de cloridrato de tiamina. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade equivalente a 6 mg de cloridrato de tiamina e solubilizar em 5 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e 50 mL de água. Agitar por 20 minutos, diluir a 100 mL com água e filtrar.

Solução amostra: para comprimidos contendo 10 mg ou mais de cloridrato de tiamina. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade equivalente a 30 mg de cloridrato de tiamina, solubilizar em 25 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e 250 mL de água. Agitar por 20 minutos, diluir a 500 mL com água e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{17}ClN_4OS$. HCl nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Manter em recipientes não metálicos e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE TIAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$. Solução estéril de cloridrato de tiamina em água para injetável.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **C.***

A. Transferir volume da solução injetável equivalente a 0,1 g de cloridrato de tiamina a 10 mL de água destilada e dividir em quatro porções. Fazer reagir, separadamente, cada fração com 0,5 mL de cloreto mercúrico SR, iodo SR, iodeto de potássio mercúrio SR e trinitrofenol SR, produzindo-se, respectivamente, precipitados de coloração branco, vermelho-acastanhado, amarelo claro e amarelo.

B. Diluir porção da solução injetável com água para concentração de 10 mg/mL de cloridrato de tiamina. A 0,5 mL dessa solução, adicionar 5 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*, então adicionar 0,5 mL de ferrocianeto de potássio e 5 mL de álcool isobutílico, agitar vigorosamente durante dois minutos e deixar em repouso por 30 minutos. A camada alcoólica deve apresentar fluorescência azul, mais nítida quando observada sob luz ultravioleta. Esta fluorescência desaparece pela acidificação, voltando pela alcalinização da mistura.

C. Satisfaz às reações de íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,5 a 4,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 3,5 UE/mg de cloridrato de tiamina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de fosfato de potássio monobásico 0,04 *M* e álcool metílico (55:45).

Solução de padrão interno: preparar uma solução de metilparabeno em *Fase móvel* com concentração de 0,1 mg/mL.

Solução amostra: transferir volume de solução injetável equivalente para obter solução contendo 0,5 mg/mL de cloridrato de tiamina. Transferir 10 mL da solução resultante e 10 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e agitar.

Solução padrão: preparar uma solução de cloridrato de tiamina SQR em *Fase móvel* com concentração de 0,5 mg/mL. Transferir 10 mL da solução resultante e 10 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e agitar para obter solução com concentração de 50 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativo são cerca de 0,3 para tiamina e 1,0 para metilparabeno. A resolução entre os picos de tiamina e metilparabeno é, no mínimo, 6,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ em cada mL do injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

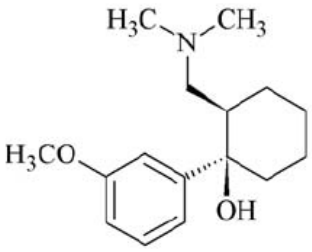
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE TRAMADOL

Tramadoli hydrochloridum



. HCl e enantiômero

$C_{16}H_{25}NO_2$.HCl; 299,84
cloridrato de tramadol; 08807
Cloridrato de (1*R*,2*R*)-*rel*-2-[(dimetilamino)metil]-1-(3- metoxifenil)ciclohexanol (1:1)
[*36282-47-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{16}H_{25}NO_2$.HCl em relação a substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca.

Solubilidade. Solúvel em água, álcool etílico e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 180 ºC a 184 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -0,10 a +0,10. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A.O espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximo de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tramadol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 300 nm, da solução a 0,1 mg/mL, exibe máximo de absorção em 270 nm, idêntico ao observado no espectro de cloridrato de tramadol SQR.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 5,0% (p/v) em água é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. Pesar 1 g da amostra, solubilizar em 20 mL de água e adicionar 0,2 mL de vermelho de metila SI e 0,2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Desenvolve-se coloração vermelha. Adicionar 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*. Desenvolve-se coloração amarela.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (3 μm a 10 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: utilizar mistura de ácido tricloroacético a 0,2% (p/v) e acetonitrila (705:295).

Solução amostra: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, da amostra na *Fase móvel*, de modo a obter solução contendo 1,5 mg/mL.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de tramadol SQR na *Fase móvel*, de modo a obter solução contendo 0,003 mg/mL.

Solução de resolução: pesar, com exatidão, 5 mg de cloridrato de tramadol substância relacionada A SQR ((1*RS*, 2*SR*)-2-[(dimetilamino)metil)]-1-(3- metoxifenil) cicloexanol) e transferir para balão volumétrico de 100 mL juntamente com 4 mL da *Solução amostra*. Completar o volume com a *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo é de 1,0 para o cloridrato de tramadol (tempo de retenção: em torno de cinco minutos) e de cerca de 0,85 para o cloridrato de tramadol substância relacionada A. A resolução entre os picos do cloridrato de tramadol e do cloridrato de tramadol substância relacionada A é de, no mínimo, 2,0. No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, a área sob o pico do cloridrato de tramadol substância relacionada A não é maior que a área obtida com o pico principal da *Solução padrão* (0,2%). Qualquer outra impureza registrada no cromatograma da *Solução amostra* não possui área maior que 0,5 vezes a área obtida com o pico principal da *Solução padrão* (0,1%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Solubilizar 1,0 g da amostra em água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, 0,25 g da amostra, solubilizar em 80 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 29,984 mg de $C_{16}H_{25}NO_2$.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico.

CLORIDRATO DE TRAMADOL SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{25}NO_2$.HCl. Solução estéril em água para injetáveis.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** na faixa de 250 nm a 300 nm, da solução da amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 270 nm, idêntico ao observado no espetro da solução padrão.

B. Satisfaz às reações de íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,5 a 6,3.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar o método de inoculação direta ou filtração em membrana.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 7,0 UE/mL de cloridrato de tramadol.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução injetável equivalente a 50 mg de cloridrato de tramadol para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água, obtendo concentração de 0,01% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 270 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{25}NO_2$**.**HCl na solução injetável, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

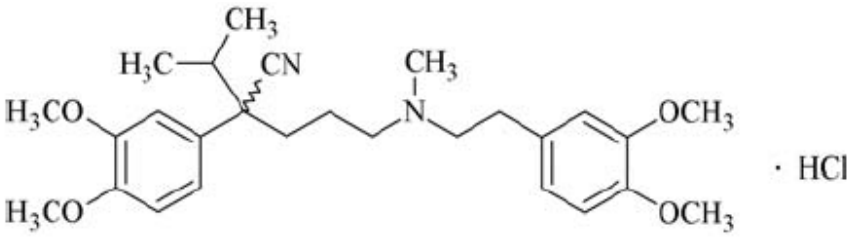
Em recipientes de vidro tipo I, em local fresco e protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE VERAPAMIL

Verapamili hydrochloridum



$C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl; 491,06
cloridrato de verapamil; 09119
Cloridrato de *α*-[3-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]-3,4-dimetoxi-*α*-(1-metiletil)-benzenoacetonitrila (1:1)
[*152-11-4*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 140 °C a 144 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de verapamil SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 210 nm a 340 nm, da solução a 0,002% (p/v) em ácido clorídrico 0,01 *M*, há máximos em 229 nm e 278 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 278 nm e 229 nm é de 0,35 a 0,39.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 6,5. Determinar em solução a 5,0% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 nm; coluna de 125

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 0,9 mL/minuto.

Tampão acetato: solução aquosa de acetato de sódio 0,015 *M*, contendo ácido acético glacial a 3,3% (v/v).

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato*, acetonitrila e 2-aminoeptano (70:30:0,5).

Solução (1): solução a 1,9 mg/mL da amostra em *Fase móvel*.

Solução (2): solução de cloridrato de verapamil SQR a 5,6 μg/mL em *Fase móvel*.

Solução (3): solução de cloridrato de verapamil SQR a 9,4 μg/mL em *Fase móvel*.

Solução de resolução: pesar, com exatidão, quantidade suficiente de cloridrato de verapamil SQR e monocloridrato de *α*-[2-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]etil]-3,4-dimetoxi-*α*-(1-metiletil)benzenoacetonitrila (verapamil composto relacionado B) SQR, solubilizar em *Fase móvel* obtendo solução de resolução com concentração conhecida de 1,9 e 1,5 mg/mL, respectivamente.

Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,88 para verapamil composto relacionado B e 1,0 para verapamil. A resolução entre o pico de verapamil composto relacionado B e verapamil é, no mínimo, 1,5. O desvio padrão relativo para replicatas das injeções é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL de cada solução e registrar os cromatogramas por, no mínimo, quatro vezes o tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos, exceto o pico de verapamil, obtido com a *Solução (1)*, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,5%). A área de qualquer pico individual obtido com a *Solução (1)*, exceto o pico principal, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,3%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,4 g da amostra e solubilizar em 40 mL de ácido acético glacial, 5 mL de anidrido acético e 10 mL de acetato de mercúrio a 6% (p/v) em ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 49,106 mg de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiarrítmico.

CLORIDRATO DE VERAPAMIL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **C.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **B**.*

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 25 mg de cloridrato de verapamil, transferir para funil de separação com o auxílio de 25 mL de água e agitar por 30 minutos. Adicionar 1 mL de hidróxido de sódio *M* e extrair com 25 mL de clorofórmio, agitando por 10 minutos. Filtrar em filtro contendo sulfato de sódio anidro e evaporar até a secura. Secar a 105 °C por duas horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de verapamil SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de verapamil, transferir para um béquer com o auxílio de 10 mL de cloreto de metileno e homogeneizar. Filtrar, evaporar o filtrado até a secura e solubilizar o resíduo em 10 mL de água. A 2 mL da solução resultante, transferir 0,2 mL de solução de cloreto de mercúrio(II) a 5% (p/v). Produz-se precipitado branco.

D. A 2 mL da solução obtida no teste **C.** de *Identificação*, transferir 0,5 mL de ácido sulfúrico 3 *M* e 0,2 mL de permanganato de potássio a 1,0% (p/v). Produz-se precipitado violeta que se dissolve rapidamente produzindo uma solução amarelo pálido.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Utilizar 900 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* como meio de desintegração. No máximo 30 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: 900 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 278 nm e em 300 nm

(5.2.14), utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{27}H_{38}N_2O_4$. HCl dissolvida no meio, por meio da diferença entre as medidas em 278 nm e em 300 nm, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de verapamil SQR na mesma concentração, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, uma quantidade de pó suficiente, transferir para balão volumétrico de 25 mL para se obter solução de 1,9 mg/mL. Adicionar 15 mL de *Fase móvel* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 5,6 µg/mL.

Solução (3): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 9,4 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL de cada solução. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a do cloridrato de verapamil, não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Nenhum pico apresenta área maior que a do pico obtido com a *Solução (2)* (0,3%).

Água (5.2.20.1). No máximo 4,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 100 mg de cloridrato de verapamil, transferir para balão volumétrico de 250 mL e solubilizar em ácido clorídrico 0,01 *M*, com agitação. Completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,01 *M*. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 278 nm, utilizando ácido clorídrico 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Tampão acetato: solução aquosa de acetato de sódio 0,01 *M* contendo ácido acético glacial a 3,3% (v/v).

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato,* acetonitrila e dietilamina (65:35:1). Filtrar e desgaseificar.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 35 mg de cloridrato de verapamil, transferir para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 30 mL de *Fase móvel*. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar, de modo a obter solução a 70 μg/mL.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 70 μg/mL.

Solução de resolução: solubilizar quantidade de cloridrato de verapamil SQR e monocloridrato de *α*-[2-[[2-(3,4- dimetoxifenil)etil]metilamino]etil]-3,4-dimetoxi-*α*-(1-metiletil)benzenoacetonitrila (verapamil composto relacionado B) SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 70 μg/mL para cada composto.

Injetar replicatas de 10 μL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,88 para verapamil composto relacionado B e 1,0 para cloridrato de verapamil. A resolução entre os picos de verapamil composto relacionado B e de cloridrato de verapamil é, no mínimo, 1,5. O desvio padrão entre as replicatas de injeção é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE VERAPAMIL SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **C.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **B**.*

A. Diluir um volume da amostra contendo o equivalente a 10 mg de cloridrato de verapamil em 5 mL ácido clorídrico 0,1 *M*, extrair com 5 mL de éter etílico, descartar o extrato e alcalinizar a fase aquosa utilizando carbonato de potássio sesqui-hidratado. Extrair com 5 mL de éter etílico, filtrar a fase etérea em de sulfato de sódio anidro e evaporar até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de verapamil SQR preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

C. Em volume da solução injetável contendo 5 mg de cloridrato de verapamil, adicionar 0,2 mL de cloreto de mercúrio(II) a 5% (p/v). Produz-se precipitado branco.

D. Em volume da solução injetável contendo 5 mg de cloridrato de verapamil, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico 3 *M* e 0,2 mL de permanganato de potássio a 1,0% (p/v). Produz-se precipitado violeta que se dissolve rapidamente para formação de uma solução amarelo pálido intenso.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste para injetáveis de pequenos volumes.

pH (5.2.19). 4,0 a 6,5.

ENSAIO DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as Soluções como descrito a seguir:

Solução (1): solução da amostra contendo 2,5 mg/mL de cloridrato de verapamil.

Solução (2): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móve*l de modo a obter uma solução de concentração conhecida de 5,6 µg/mL.

Solução (3): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução de concentração conhecida de 9,4 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)*, 10 µL da *Solução (2)* e 10 µL da *Solução (3)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das respostas dos picos, exceto a do cloridrato de verapamil obtido na *Solução (1)*, não é maior que a resposta do pico obtido com a *Solução (3)* (0,5%); e nenhum pico é maior que a resposta do pico obtido com a *Solução (2)* (0,3%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 16,7 UE/mg de cloridrato de verapamil.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir um volume de solução contendo 5 mg de cloridrato de verapamil para balão volumétrico de 100 mL e solubilizar com ácido clorídrico 0,01 *M*. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 278 nm, utilizando ácido clorídrico 0,01 *M* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 118, em 278, em ácido clorídrico 0,01 *M*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo provido de detector 278 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 ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Tampão acetato: solução aquosa de acetato de sódio 0,015 *M*, contendo ácido acético glacial a 3,3% (v/v).

Fase móvel: preparar uma mistura de *Tampão acetato*, acetonitrila e dietilamina (65:35:1). Filtrar e desgaseificar a mistura.

Solução amostra: diluir a solução injetável, com exatidão, se necessário, com *Fase móvel*, de modo a obter uma solução de 70 μg/mL.

Solução padrão: solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter concentração conhecida de 70 μg/mL.

Solução de resolução: solubilizar quantidade de cloridrato de verapamil SQR e monocloridrato de *α*-[2-[[2-(3,4- dimetoxifenil)etil]metilamino]etil]-3,4-dimetoxi-*α*- (1-metiletil)benzenoacetonitrila (verapamil composto relacionado B) SQR em *Fase móvel*, de modo a obter uma solução de concentração conhecida de 70 μg/mL para cada composto.

Injetar 10 μL da *Solução de resolução* e registrar as respostas dos picos. Os tempos relativos de retenção são de aproximadamente 0,88 para verapamil composto relacionado B e 1,0 para cloridrato de verapamil SQR. A resolução entre o verapamil composto relacionado B e o cloridrato de verapamil SQR é, no mínimo, 1,5 e o desvio padrão entre as replicatas de injeção é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da S*olução padrão* e da *Solução amostra*. Calcular a quantidade de $C_{27}H_{38}N_2O_4$.HCl na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLOROIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO

Aluminium hydroxydatum chloratum

$Al_y(OH)_{3y-z}Cl_z.nH_2O$
cloridrato de alumínio; 02454
[*1327-41-9*]
cloroidróxido de alumínio; 09695
[*12042-91-0*]

Os cloroidróxidos de alumínio são complexos poliméricos hidratados, abrangendo uma faixa de razão entre os átomos de alumínio e cloro de 1,91:1 a 2,10:1. Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade rotulada de cloroidróxido de alumínio anidro [$Al_y(OH)_{3y-z}Cl_z$].

IDENTIFICAÇÃO

A solução aquosa da amostra a 10% (p/v), satisfaz às reações dos íons alumínio e cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 15,0% (p/v).

Conteúdo de alumínio. Pesar 0,2 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 150 mL, adicionar 20 mL de água e 5 mL de ácido clorídrico. Manter em ebulição durante cinco minutos. Deixar esfriar. Em seguida, adicionar 25 mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV e ajustar o pH para 4,7 ± 0,1 com hidróxido de amônio ou ácido acético *M*. Adicionar 20 mL de tampão ácido acético-acetato de amônio, 50 mL de álcool etílico e 5 mL de ditizona SR. O pH dessa solução deve ser de 4,7 ± 0,1. Titular com sulfato de zinco 0,1 *M* SV até surgimento de coloração rosa-púrpura. Realizar prova em branco. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV consumido equivale a 2,698 mg de alumínio. Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/cloro.

Conteúdo de cloreto. Pesar 0,7 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL, adicionar 100 mL de água e 10 mL de ácido nítrico *M*. Agitar até a solubilização e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente, utilizando um eletrodo prata-cloreto de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 3,545 mg de cloreto. Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/cloro.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 1,5 g de amostra. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Pesar 0,667 g da amostra e acrescentar 40 mL de água. No máximo 0,015% (150 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Pesar 1 g da amostra e solubilizar com 40 mL de água. Ajustar o pH entre 3,0 e 4,0 com hidróxido de amônio 6 *M*. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados* utilizando 2 mL da *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Razão atômica alumínio/cloro. Dividir o percentual de alumínio encontrado em teste para *Conteúdo de alumínio* pelo percentual de cloro encontrado no teste para C*onteúdo de cloro* e multiplicar por

35,453/26,98. Onde 35,453 é a massa atômica do cloro e 26,98 é a massa atômica do alumínio. Entre 1,90:1 e 2,10:1.

Água (5.2.20.1). No máximo 18,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Calcular a porcentagem do cloroidróxido de alumínio, segundo a expressão:

$$Al(\{26,98x + [17,01(3x - 1)] + 35,453\} / 26,98x)$$

em que
Al = percentual de alumínio encontrado no teste para C*onteúdo de alumínio*;
x = razão atômica alumínio/cloro encontrada no teste para *Razão atômica alumínio/cloro*;
26,98 = massa atômica do alumínio;
17,01 = massa atômica do ânion hidróxido;
35,453 = massa atômica do cloro.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

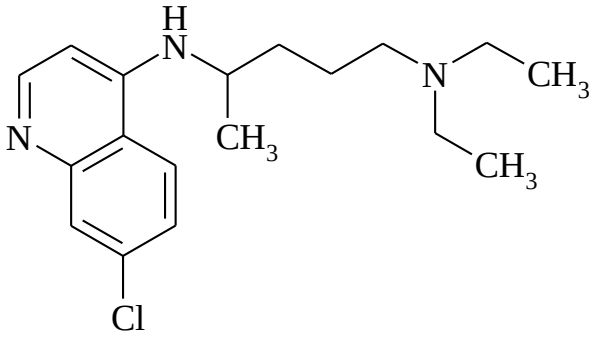
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLOROQUINA

Chloroquine



$C_{18}H_{26}ClN_3$; 319,87
cloroquina; 02487
N4-(7-cloroquinolin-4-il)-N1,N1-dietilpentano-1,4-diamina.
[*54-05-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{26}ClN_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou branca-amarelada.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água. Solúvel em ácidos diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 87 °C a 92 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar 25 mg da amostra, solubilizar em 10 mL de água e 2 mL de hidróxido de sódio 8,5% (p/v). Agitar duas vezes com 20 mL de cloreto de metileno. Coletar as fases orgânicas e lavar com 10 mL água. Secar com sulfato de sódio anidro, evaporar à secura e solubilizar o resíduo em 0,5 mL de cloreto de metileno. Para o preparo do padrão, solubilizar 40 mg de fosfato de cloroquina SQR em 10 mL de água e seguir o procedimento descrito para o preparo da amostra. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da solução amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fosfato de cloroquina SQR.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 10 µL/mL em ácido clorídrico 0,001% (v/v), há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de cloroquina SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 343 nm e 329 nm está compreendida entre 1,00 e 1,15.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra em estufa 105 ºC, por duas horas. No máximo 2%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar com exatidão, 0,25 g da amostra, solubilizar em 50 mL de ácido acético glacial e adicionar cloreto de metilrosanilínio SI 10 mg/mL em ácido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. O ponto final também pode ser determinado potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 15,99 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3$. Fazer prova em branco e correções, se necessário.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

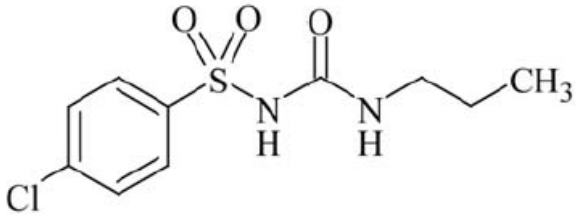
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

CLORPROPAMIDA

Chlorpropamidum



$C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$; 276,74
clorpropamida; 02505
4-Cloro-*N*-[(propilamino)carbonil]benzenossulfonamida
[*94-20-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 126 °C a 130 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da clorpropamida SQR, preparado de maneira idêntica. Caso os espectros obtidos mostrem-se diferentes, solubilizar o padrão e a amostra em cloreto de metileno, evaporar até a secura e realizar novos espectros utilizando os resíduos.

B. Preparar uma solução da amostra a 0,01% (p/v) em álcool metílico e diluir 10 mL desta solução em 100 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 350 nm, da solução amostra exibe máximo de absorção em 232 nm e a absorvância em 232 nm é de 0,57 a 0,63.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando placa de sílica-gel GF_{254} como suporte e mistura de amônia, cicloexano, álcool metílico e cloreto de metileno (11,5:30:50:100) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solubilizar 0,5 g da amostra em acetona e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): solubilizar 15 mg de 4-clorobenzenosulfonamida (clorpropamida impureza A) SQR em acetona e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): solubilizar 15 mg de 1,3-dipropilureia (clorpropamida impureza B) SQR em acetona e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): diluir 0,3 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetona.

Solução (5): diluir 5 mL da *Solução (3)* para 15 mL com acetona.

Solução (6): solubilizar 0,1 g da amostra, 5 mg de 4-clorobenzenosulfonamida (clorpropamida impureza A) SQR e 5 mg de 1,3-dipropilureia (clorpropamida impureza B) SQR em acetona e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma em 15 cm da placa. Secar a placa em estufa a 110 °C durante 10 minutos. No fundo da cuba cromatográfica colocar uma mistura contendo um volume de ácido clorídrico, um volume de água e dois volumes de uma solução 5% (p/v) de permanganato de potássio. Fechar a cuba e esperar por 15 minutos. Colocar a placa em contato com vapor de cloro por dois minutos. Retirar a placa e colocá-la em local de corrente de ar frio até que o excesso de cloro seja removido e a área de cobertura abaixo dos pontos de aplicação não apresente coloração azul com uma gota de amido iodetado SR1. Nebulizar com amido iodetado SR1. No cromatograma obtido com a *Solução (1),* qualquer mancha correspondente à impureza A não é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (2)* (0,3%), qualquer mancha correspondente à impureza B não é mais intensa que a obtida no cromatograma da *Solução (3)* (0,3%), qualquer mancha, além da mancha principal, e qualquer mancha correspondente às impurezas A e B não é mais intensa que a mancha do cromatograma obtido com a *Solução (4)* (0,3%); não mais que duas manchas são mais intensas que a mancha obtida no cromatograma da *Solução (5)* (0,1%). O teste não é válido a menos que o cromatograma obtido com a *Solução (6)* mostre três manchas separadas claramente com valores de Rf aproximados de 0,4 para clorpropamida, 0,6 para impureza A e 0,9 para impureza B.

Metais pesados (5.3.2.3). Preparar uma solução a 10,0% (p/v) da amostra em acetona ou dioxano contendo, no mínimo, 15% (v/v) de água. Proceder conforme descrito em *Método III.* Utilizar *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa entre 100 ºC e 105 °C, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,4%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, 0,25 g da amostra, solubilizar em 50 mL de álcool etílico, previamente neutralizado em presença de solução de fenolftaleína SI, e adicionar 25 mL de água. Titular com

hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até a obtenção da coloração rosa. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 27,674 mg de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: preparar uma mistura de igual volume de ácido acético glacial diluído (1:100) e acetonitrila. Filtrar e desgaseificar a mistura.

Nota: *não exceder a quantidade de 50% de acetonitrila. Proceder com ajustes, se necessário.*

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de clorpropamida SQR, solubilizar em *Fase móvel*, e diluir adequadamente, com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,05 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* O tempo de retenção é cerca de 2,2 minutos para a clorpropamida. O fator de cauda é, no máximo, 1,5 e o desvio padrão relativo para as replicatas de injeção é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução padrão*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hipoglicemiante.

CLORPROPAMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 1 g de clorpropamida, solubilizar em 4 mL de acetona, filtrar e evaporar até a secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clorpropamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} como suporte, e mistura de cloreto de metileno, álcool metílico, cicloexano e hidróxido de amônio (100:50:30:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): homogeneizar uma quantidade de pó do comprimido, equivalente a 100 mg de clorpropamida, com 20 mL de ácido clorídrico *M* e extrair com 50 mL de clorofórmio. Filtrar a solução e lavar o algodão com clorofórmio em um béquer. Evaporar o clorofórmio em um banho-maria até a secura. Secar o resíduo a 105 °C por uma hora. A partir do resíduo obtido, preparar uma solução 1 mg/mL em acetona.

Solução (2): preparar uma solução a 1 mg/mL de clorpropamida SQR em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 230 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ dissolvida no meio,

comparando as leituras obtidas com a solução de clorpropamida SQR de concentração conhecida, preparada em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Nota: *um volume de álcool etílico que não exceda 10% (v/v) pode ser adicionado no preparo da solução padrão para solubilizar a clorpropamida SQR.*

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ se dissolvem em 60 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,25 g de clorpropamida, homogeneizar com 40 mL de álcool metílico por 20 minutos, completar o volume para balão volumétrico de 50 mL com o mesmo solvente. Filtrar e diluir a amostra até a concentração de 0,001% (p/v), com ácido clorídrico 0,1 *M*. Preparar solução de clorpropamida SQR na mesma concentração. Medir as absorvâncias das soluções em 232 nm. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, pode-se utilizar A(1%, 1 cm) = 598, em 232 nm.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia *Clorpropamida*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: Pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 50 mg de clorpropamida, transferir para balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de 75 mL de *Fase móvel*. Homogeneizar durante 10 minutos e completar o volume com a *Fase móvel*. Filtrar, descartando os primeiros 10 mL do filtrado. Pipetar 10 mL do filtrado e colocar em um segundo balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução padrão*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

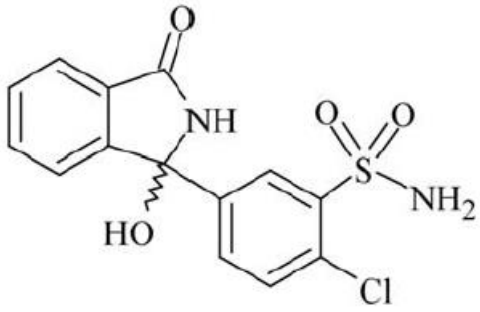
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORTALIDONA

Chlortalidonum



$C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$; 338,77
clortalidona; 02510
2-Cloro-5-(2,3-di-hidro-1-hidroxi-3-oxo-1*H*-isoindol-1-il)-benzenossulfonamida
[*77-36-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração branca ou branca-amarelada. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -0,15 a +0,15. Determinar em solução a 1,0% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se for realizado o teste **A**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos números de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clortalidona SQR, preparado de maneira idêntica. Caso os espectros obtidos mostrem-se diferentes, solubilizar o padrão e a amostra em álcool metílico, evaporar até a secura e realizar novos espectros utilizando os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 340 nm, da solução da amostra a 0,01% (p/v) em álcool etílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de clortalidona SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 284 nm e 275 nm está compreendida entre 0,73 e 0,88.

C. A mancha no cromatograma da *Solução (3)*, obtida no ensaio de *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela no cromatograma da *Solução (4)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Agitar 1 g da amostra em 50 mL da mistura de acetona e água isenta de dióxido de carbono (1:1) com o auxílio de aquecimento. Deixar esfriar. No máximo 0,75 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* é gasto para neutralizar, determinando o ponto final potenciometricamente.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de tolueno, xileno, hidróxido de amônio, dioxano e álcool isopropílico (5:10:20:30:30), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar, com exatidão, 200 mg da amostra, solubilizar em mistura de água e acetona (1:4) e diluir para 5 mL com a fase móvel.

Solução (2): pesar, com exatidão, 20 mg do ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)-benzoico SQR e 20 mg de clortalidona SQR, solubilizar em mistura de água e acetona (1:4) e diluir para 50 mL com a fase móvel.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com mistura de água e acetona (1:4).

Solução (4): solução a 0,2 mg/mL de clortalidona SQR em mistura de água e acetona (1:4).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha correspondente ao ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)-benzoico obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%). Qualquer mancha secundária, diferente da mancha principal e da mancha do ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)-benzoico obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%). O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (2)* apresentar duas manchas nitidamente separadas.

Cloretos (5.3.2.1). Pulverizar e pesar 0,3 g da amostra. Adicionar 30 mL de água, agitar por cinco minutos e filtrar. Utilizar 10 mL do filtrado para realizar *Ensaio limite para cloretos*. Preparar o padrão de cloretos. No máximo 350 ppm (0,035%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2,0 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por quatro horas. No máximo 0,4%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra e solubilizar 50 mL de acetona. Titular com hidróxido de tetrabutilamônio 0,1 *M* SV sob atmosfera de nitrogênio. Determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de tetrabutilamônio 0,1 *M* SV equivale a 33,877 mg de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato dibásico de amônia 0,01 *M* e álcool metílico (3:2). Ajustar o pH para 5,5 ± 0,1, com ácido fosfórico.

Solução de padrão interno: pesar, com exatidão quantidade de 2,7-naftalenodiol, solubilizar em álcool metílico e diluir quantitativamente para obter solução a 1 mg/mL.

Solução de ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)benzoico: pesar, com exatidão, quantidade de ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)benzoico SQR, solubilizar em álcool metílico e diluir quantitativamente para obter solução a 5 µg/mL.

Solução amostra: pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, solubilizar em álcool metílico e diluir para 50 mL com o mesmo o solvente. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 5 mL da *Solução de padrão interno* e 10 mL de álcool metílico. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de clortalidona SQR, solubilizar em álcool metílico e diluir quantitativamente para obter solução a 1 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 5 mL da *Solução de padrão interno* e 10 mL da *Solução de ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)benzoico*. Completar o volume com água e homogeneizar.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,5 para o ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)benzoico, 0,8 para a clortalidona e 1,0 para o 2,7-naftalenodiol. A resolução entre os picos da clortalidona e do ácido 2-(4-cloro-3- sulfamoilbenzoil)benzoico e entre os picos da clortalidona e do 2,7-naftalenodiol é, no mínimo, 1,5. O fator de cauda para os picos da clortalidona e do ácido 2-(4-cloro- 3-sulfamoilbenzoil)benzoico é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

CLORTALIDONA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,0% e, no máximo, 108,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,1 g de clortalidona, transferir para béquer e solubilizar em 10 mL de acetona. Aquecer em banho-maria por cinco minutos. Deixar esfriar e filtrar. Transferir 20 mL de água ao filtrado e aquecer em banho-maria por cinco minutos. Aplicar, gentilmente, corrente de ar sobre a solução para remover a acetona. Deixar esfriar em banho de gelo, filtrar e secar os cristais a 105 °C por quatro horas. O resíduo seco satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Clortalidona*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução de padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 275 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de clortalidona SQR na concentração de 0,5% (p/v) em álcool metílico. Realizar diluições sucessivas dessa solução em água até concentração adequada.

Tolerância: no mínimo 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de tolueno, xileno, hidróxido de amônio, dioxano e álcool isopropílico (5:10:20:30:30), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 100 mg de clortalidona e solubilizar em 5 mL de álcool etílico. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e centrifugar. Utilizar o sobrenadante límpido.

Solução (2): Transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com álcool etílico.

Solução (3): pesar, com exatidão, quantidade, do ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)benzoico SQR, solubilizar em álcool etílico e diluir para obter solução a 0,02% (p/v) no mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha correspondente ao ácido 2-(4-cloro-3-sulfamoilbenzoil)benzoico obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (1,0%). Qualquer outra mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar com exatidão, quantidade do pó equivalente a 100 mg de clortalidona, adicionar 30 mL de álcool metílico e ferver sob refluxo por cinco minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos. Deixar esfriar e filtrar. Lavar o resíduo com álcool metílico, juntar as lavagens ao filtrado e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução e 2 mL de ácido clorídrico *M* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico. Medir a absorvância da solução resultante em 275 nm, utilizando álcool metílico para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar o cálculo utilizando A (1%, 1cm) = 57,4, em 275 nm.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, de acordo com o método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Clortalidona*. Preparar as *Soluções padrão* e *amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 100 mg de clortalidona, transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de álcool metílico e agitar mecanicamente por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL, contendo 5 mL da *Solução de padrão interno* e 10 mL de álcool metílico. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: preparar como indicado na monografia de *Clortalidona*. Substituir a *Solução de ácido 2-(4-cloro-3- sulfamoilbenzoil)benzoico* por 10 mL de álcool metílico.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. A resolução entre os picos da clortalidona e do 2,7-naftalenodiol deve ser, no mínimo, 1,5. O fator de cauda para os picos da clortalidona e do 2,7-naftalenodiol é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

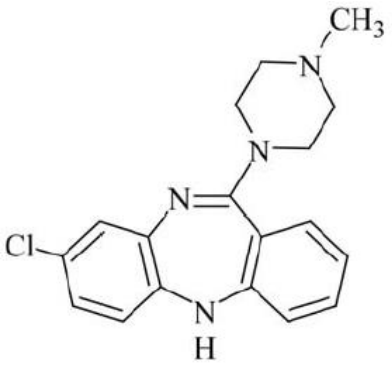
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLOZAPINA
Clozapinum



$C_{18}H_{19}ClN_4$; 326,82
clozapina; 02540
8-Cloro-11-(4-metil-1-piperazinil)-5*H*-dibenzo[*b*,*e*][1,4] diazepina
[*5786-21-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{18}H_{19}ClN_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração amarela.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico. Solúvel em ácido acético diluído.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 182 ºC a 186 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da clozapina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (1)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 0,25 mm, como suporte, e mistura de clorofórmio e álcool metílico (3:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solubilizar 0,1 g da amostra em álcool etílico e completar para 10 mL com clorofórmio.

Solução (2): pesar, com exatidão, 2,5 mg de clozapina SQR e transferir para um balão volumétrico de 25 mL. Solubilizar em clorofórmio e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (3): transferir 3 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,3%.

Solução (4): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,2%.

Solução (5): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,1%.

Solução (6): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,05%.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm), e comparar a intensidade de alguma mancha secundária observada no cromatograma da *Solução (1)* com aquela da mancha principal do cromatograma da *Solução (2).* Qualquer mancha do cromatograma da *Solução (1)* com valor de Rf de 0,82 corresponde a 11,11-(piperazina-1,4-diil)bis(8-cloro-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepina); Rf de 0,67 corresponde a 8-cloro-5,10-di-hidro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepina-11-ona e Rf de 0,10 corresponde a 8-cloro-11-(1-piperazina-1-il)-5Hdibenzo[b,e][1,4]-diazepina) ou mais intensa do que a *Solução (3), Solução (4)* e *Solução (5),* respectivamente. Qualquer outra mancha secundária do cromatograma da *Solução (1)* não é maior ou mais intensa do que a mancha principal obtida da *Solução (5).* A soma da intensidade de todas as manchas secundárias obtidas da *Solução (1)* corresponde a, no máximo, 0,6%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III.* Preparar o padrão com 2 mL de solução a 10 ppm de chumbo (Pb). No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 °C a 105 °C, por quatro horas, até peso constante. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e solubilizar em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 16,341 mg de $C_{18}H_{19}ClN_4$.

EMBALAGEM E DOSEAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antipsicótico.

CLOZAPINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da quantidade declarada de $C_{18}H_{19}ClN_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (1)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 1000 mL. Adicionar 640 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água. Prosseguir conforme descrito no método de *Doseamento* a partir de "Homogeneizar...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão acetato pH 4,0, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com *Meio de dissolução* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{19}ClN_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de clozapina SQR na concentração de 1,11% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 85% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{19}ClN_4$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 0,25 mm, e mistura de *n*-heptano, clorofórmio, álcool etílico absoluto e hidróxido de amônio (30:30:30:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, a placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução diluente: preparar mistura de clorofórmio e álcool metílico (4:1).

Solução (1): pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, o equivalente a 125 mg de clozapina, transferir para balão volumétrico de 25 mL e solubilizar utilizando 20 mL de *Solução diluente*. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos e completar o volume com *Solução diluente*. Filtrar e homogeneizar.

Solução (2): solução a 5 mg/mL de clozapina SQR amostra em *Solução diluente*.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com o clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,5%.

Solução (4): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com o clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,4%.

Solução (5): transferir 3 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,3%.

Solução (6): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,2%.

Solução (7): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com o clorofórmio. Porcentagem para comparação com a amostra 0,1%.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta no comprimento de onda curto, e comparar a intensidade de qualquer mancha secundária observada no cromatograma da *Solução (1)* com aquela da mancha principal do cromatograma das *Soluções (2), (3), (4), (5), (6)* e *(7)*. Nenhuma outra mancha secundária do cromatograma da *Solução (1)* é mais larga ou mais intensa do que a mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (3)* (0,5%); e a soma das intensidades de todas as manchas secundárias obtidas da *Solução (1)* corresponde a, no máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 de ultravioleta a 257 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico, água e trietilamina (800:200:0,75).

Solução amostra: pesar e pulverizar, no mínimo, 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó, equivalente a 125 mg de clozapina, transferir para balão volumétrico de 1000 mL e solubilizar em 640 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água e homogeneizar, obtendo solução a 0,125 mg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de clozapina SQR e solubilizar em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,125 mg/mL. A composição final do solvente álcool metílico:água deve ser de cerca de 8:2.

*Solução de resolução:*pesar, com exatidão, 10 mg de clozapina, e transferir para um recipiente adequado. Adicione 5 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, aquecer por duas horas a 90 °C. Transferir essa solução para balão volumétrico de 100 mL, com o auxílio de 15 mL de água e completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar. Transferir 10 mL dessa preparação e 10 mL da *Solução padrão* para um recipiente adequado e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna deve ser, no mínimo, 1500 pratos teóricos, o desvio padrão relativo para replicatas é, no máximo, 2,0%. Injetar 10 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre a clozapina e qualquer outro pico deve ser, no mínimo, 1,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de clozapina $C_{18}H_{19}ClN_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

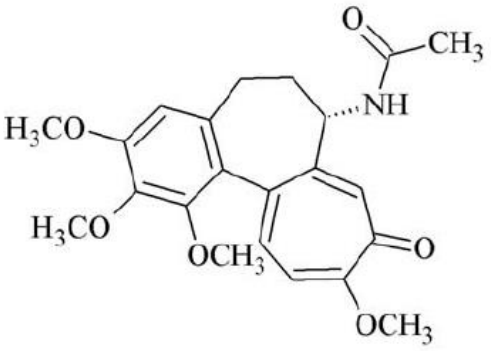
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

COLCHICINA
Colchicinum



$C_{22}H_{25}NO_6$; 399,44
colchicina; 02567
N-[(7*S*)-5,6,7,9-Tetraidro-1,2,3,10-tetrametoxi-9- oxobenzo[*a*]heptalen-7-il]acetamida
[*64-86-8*]

Contém, no mínimo, 94,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{22}H_{25}NO_6$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amorfo ou cristalino, de coloração amarela-pálida.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 142 °C a 150 °C (pó amorfo); 157 °C (cristal).

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -240 a -250, determinado em solução a 1% (p/v) em álcool etílico, em relação à substância anidra.

IDENTIFICAÇÃO

A. Solubilizar a amostra em 0,5 mL de clorofórmio, dispersar em brometo de potássio, homogeneizar e evaporar o solvente primeiramente numa corrente de ar e depois por aquecimento a 80 °C por 60 minutos. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de colchicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximos em 243 nm e 350 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de colchicina SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 0,5% (p/v) em água é límpida **(5.2.25)**, não apresentando coloração mais intensa **(5.2.12)** que uma solução preparada pela diluição de 8,5 mL da *Solução de referência de cor SC O* em 91,5 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. Adicionar a 10 mL de solução amostra a 0,5% (p/v) em água, 0,1 mL de azul de bromotimol SI. Não ocorre alteração de cor nem produção de coloração verde. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* é necessário para a viragem do indicador para coloração azul.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel HF_{254}, como suporte, e mistura de amônia concentrada, clorofórmio e acetona (1:25:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em clorofórmio.

Solução (2): diluir 2 mL da *Solução (1)* para 100 mL com clorofórmio.

Solução (3): diluir 5 mL da *Solução (2)* para 10 mL com clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa do que aquela obtida no cromatograma da *Solução (2)* (2%) e não mais que uma mancha é mais intensa do que aquela obtida no cromatograma da *Solução (3)* (1%).

Acetato de etila (5.2.33). No máximo 6% (p/p).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,5 g de amostra. No máximo 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,5 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,25 g da amostra, solubilizar em uma mistura de 10 mL de anidrido acético e 20 mL de tolueno e aquecer, se necessário. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 39,940 mg de $C_{22}H_{25}NO_6$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (3 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 0,5 *M*, água e álcool metílico (4,5:45:53). Ajustar o pH para 5,50 ± 0,05 com ácido fosfórico.

Solução amostra: solução a 6 µg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e água (1:1). Preparar imediatamente antes de usar.

Solução padrão: solução a 6 µg/mL de colchicina SQR em mistura de álcool metílico e água (1:1). Preparar imediatamente antes de usar.

A eficiência da coluna é, no mínimo, 4500 pratos teóricos/metro. O tempo de retenção para colchicina está entre 5,5 e 9,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{25}NO_6$ a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente antigotoso.

COLCHICINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{22}H_{25}NO_6$.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão quantidade de pó equivalente a 20 mg de colchicina e dispersar com 20 mL de água. Filtrar. Transferir o filtrado para funil de separação. Extrair com 30 mL de clorofórmio. Evaporar o clorofórmio, até resíduo, sob calor brando. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* na monografia de *Colchicina* utilizando o resíduo obtido.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 500 mL.
Aparelhagem: cesta, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: realizar o teste, com agilidade, ao abrigo da luz. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar imediatamente.Diluir, se necessário, com água, até concentração adequada. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* na monografia de *Colchicina*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{25}NO_6$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* na monografia de *Colchicina.* Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,6 mg de colchicina e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 50 mL de mistura álcool metílico e água (1:1). Agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Preparar imediatamente antes de usar, ao abrigo da luz.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{25}NO_6$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

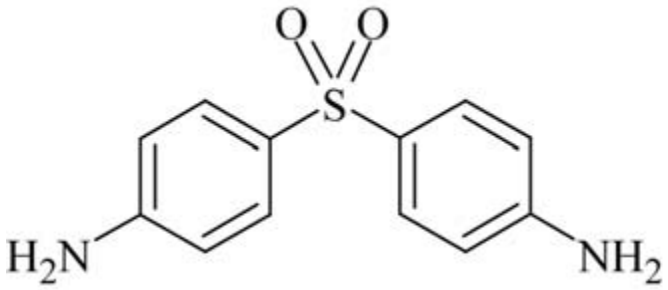
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DAPSONA
Dapsonum



$C_{12}H_{12}N_2O_2S$; 248,30
dapsona; 02686
4,4'-Sulfonilbisbenzenamina
[*80-08-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou levemente amarelada.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em ácidos minerais diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 175 °C a 181 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de dapsona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução a 0,0005% (p/v), em álcool metílico, há máximos em 260 nm e 295 nm e mínimos em 232 nm e 268 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de dapsona SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas*. A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (4)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (5).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio-acetona (1:1), como fase

móvel. Aplicar, separadamente, à placa 10 μL de cada uma das seguintes soluções, preparadas em álcool metílico.

Solução (1): solução a 1% (p/v) da amostra.

Solução (2): solução a 0,01% (p/v) da amostra.

Solução (3): solução a 0,002% (p/v) da amostra.

Solução (4): solução a 0,1% (p/v) da amostra.

Solução (5): solução a 0,1% (p/v) de dapsona SQR.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar à temperatura ambiente e nebulizar primeiramente com solução de nitrito de sódio a 0,5% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*. Aguardar por cinco minutos e nebulizar com dicloridrato de N-(1-naftil)etilenodiamina SR. Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa do que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (2)* (1,0%) e não mais que duas quaisquer dessas manchas são mais intensas do que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (3)* (0,2%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa em temperatura entre 100 °C e 105 °C, por três horas. No máximo 1,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações por diazotação* **(5.3.3.1)**, utilizar o *Método 1* ou o *Método 2*. Pesar, com exatidão, 0,25 g da amostra. Cada mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV equivale a 12,415 mg de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, solubilizar com 40 mL de álcool etílico e submeter ao banho de ultrassom por 10 minutos. Agitar durante 30 minutos e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em álcool etílico, até concentração de 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão de dapsona SQR na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 295 nm utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e opacos.

ROTULAGEM

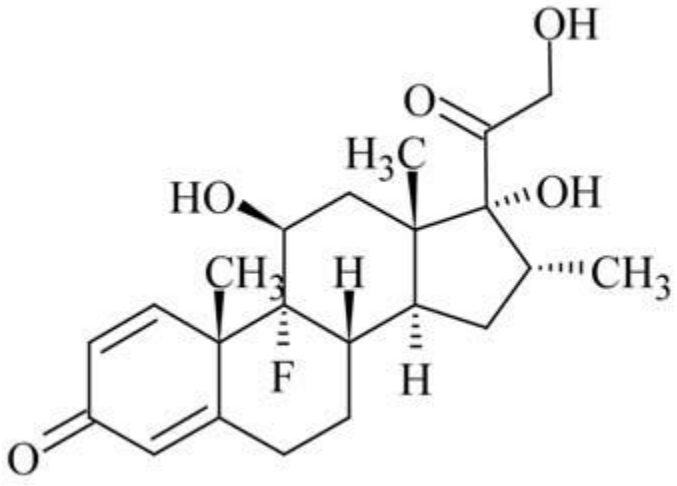
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Quimioterápico.

DEXAMETASONA

Dexamethasonum



$C_{22}H_{29}FO_5$; 392,46
dexametasona; 02817
(11*β*,16*α*)-9-Fluor-11,17,21-tri-hidroxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona
[*50-02-2*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{22}H_{29}FO_5$, calculado em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão **(5.2.2)**: 255 °C, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +72 a +80, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1,0% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de dexametasona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel contendo um indicador de fluorescência de intensidade máxima em 254 nm, como suporte, e mistura de álcool butílico saturado com água, tolueno e éter etílico (5:10:85), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): preparar solução a 1 mg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9).

Solução (2): preparar solução a 1 mg/mL da dexametasona SQR em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9).

Solução (3): preparar solução a 1 mg/mL de betametasona SQR em *Solução (2).*

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Nebulizar com solução etanólica de ácido sulfúrico. Aquecer a 120 °C durante 10 minutos ou até aparecimento de manchas e deixar arrefecer. Examinar sob luz visível e sob luz ultravioleta de 365 nm. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor sob luz visível, fluorescência sob luz ultravioleta de 365 nm e dimensões à mancha principal obtida com a *Solução (2)*. O ensaio só é válido se a *Solução (3)* apresentar duas manchas que podem não estar totalmente separadas.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com grupo fenila quimicamente ligada a partícula de sílica porosa (5 a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Tampão formato pH 3,6: pesar 1,32 g de formato de amônio, transferir para um balão volumétrico de 1000 mL, adicionar água e agitar até solubilização. Ajustar com ácido fórmico para o pH de 3,6.

Fase móvel: mistura de *Tampão formato pH 3,6* e acetonitrila (67:33). Fazer os ajustes se necessários.

Solução (1): pesar, com exatidão, 180 mg da amostra, transferir para balão volumétrico e diluir com acetonitrila. Transferir 33 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Tampão formato pH 3,6* e homogeneizar.

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução (1),* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A área individual sob os picos secundários, exceto do pico principal, é no máximo 1% da área total dos picos obtidos. A soma de todos os picos secundários, exceto do pico principal, é no máximo 2% da área total dos picos obtidos. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 5000 pratos teóricos.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C por três horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,25 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Por *Espectro de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 0,1 g da amostra e solubilizar em álcool etílico. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 2,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool etílico. Preparar solução padrão de dexametasona em álcool etílico, na mesma concentração final. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 238,5 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{29}FO_5$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar adequadamente solução álcool metílico e água (75:25).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 30 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de dexametasona SQR e solubilizar em álcool metílico para obter solução a 1 mg/mL. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 0,3 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{29}FO_5$, na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

DEXAMETASONA ELIXIR

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel, como suporte, e mistura de clorofórmio, acetona e ácido acético glacial (80:40:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra contendo 0,1 mg/mL de dexametasona.

Solução (2): solução a 0,1 mg/mL de dexametasona SQR em mistura de cloreto de metileno e álcool metílico (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa. Evaporar o solvente. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,7 a 4,0.

Determinação do álcool (5.3.3.8). Entre 3,8% e 5,7%. Álcool *n*-propílico como padrão interno.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar adequadamente solução de álcool metílico e água (75:25).

Solução amostra: solução da amostra contendo 0,1 mg/mL de dexametasona, utilizando *Fase móvel* como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, dexametasona SQR e solubilizar em *Fase móvel*, de modo a obter uma concentração 0,1 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{29}FO_5$ na amostra, a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

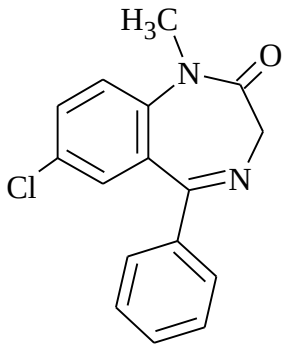
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

DIAZEPAM
Diazepamum



$C_{16}H_{13}ClN_2O$; 284,74
diazepam; 02904
7-cloro-1-metil-5-fenil-1,3-diidro-2*H*-1,4-benzodiazepina-2-ona.
[*439-14-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{16}H_{13}ClN_2O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 131 °C a 135 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de diazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetato de etila e hexano (1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de amostra em álcool etílico, de modo a obter solução de concentração 1 mg/mL.

Solução (2): solubilizar quantidade, pesada com exatidão, de diazepam SQR em álcool etílico, de modo a obter solução de concentração 1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm) capeada, mantida à 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 0,025 *M* (pH 5,0, ajustado com hidróxido de sódio *SR*), álcool metílico e acetonitrila (44:34:22).

Solução (1): pesar, com exatidão, 25 mg de amostra, solubilizar em 0,5 mL de acetonitrila e diluir para 50 mL com *Fase móvel*.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1),* diluir para 100 mL com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução de resolução: solubilizar o conteúdo de um frasco de *diazepam para adequabilidade do sistema* (contendo as impurezas A (7-cloro-5-fenil-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona (nordazepam)), B (2-cloro-N-(4-cloro-2-benzoilfenil)-N-metilacetamida) e E (6-cloro-1-metil-4-fenilquinazolin-2-(1H)-ona)) para 1 mL com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Considerando o pico referente ao diazepam com tempo de retenção de cerca de nove minutos, os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para impureza E, 0,8 para impureza A e 1,3 para impureza B. O teste somente é válido se o cromatograma apresenta resolução entre os picos das impurezas E e A de, no mínimo, 2,5 e entre os picos da impureza A e diazepam de, no mínimo, 6,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Solução (1)* e *Solução (2)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o quádruplo do tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza relatada. Utilizar 1,3 como fator de correção para o cálculo das impurezas B e E. As áreas correspondentes as impurezas A, B, E obtidas com a *Solução (1),* são, no máximo, iguais a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A área de nenhum pico secundário obtido com a *Solução (1),* exceto a do pico do solvente, é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A soma de todas as áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1),* exceto a do pico do solvente, não é maior que duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). Não considerar picos com áreas obtidas com a *Solução (1)* menores que 0,5 vez a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob vácuo, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra e solubilizar em 50 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 28,47 mg de $C_{16}H_{13}ClN_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Benzodiazepínico.

DIAZEPAM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{16}H_{13}ClN_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção em 242 nm e 284 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila e hexano (50:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL das soluções descritas a seguir.

Solução (1): pesar, com exatidão, quantidade do pó de comprimidos suficiente para preparar solução contendo 0,02% (p/v) de diazepam agitar com álcool etílico e filtrar.

Solução (2): preparar, com exatidão, solução de diazepam SQR a 0,02% (p/v) em álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar à temperatura ambiente e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de água, agitar e aguardar 15 minutos até sua desintegração. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*, a partir de "Adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 284 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ dissolvida no meio,

comparando as leituras obtidas com a da solução de diazepam SQR na concentração de 0,0005% (p/v) ou 0,001% (p/v), conforme a dose do fármaco no comprimido, preparada em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila e hexano (50:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL da *Solução (1)* e 5 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar, com exatidão, quantidade do pó de comprimidos correspondente a 50 mg de diazepam, agitar com 5 mL de álcool etílico e filtrar.

Solução (2): diluir um volume da *Solução (1)* para 50 volumes com álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar à temperatura ambiente e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nenhuma mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (2)* (2%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 10 mg de diazepam, transferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 5 mL de água, homogeneizar e deixar em repouso por 15 minutos. Adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, agitar, mecanicamente, por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,002% (p/v), utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 284 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Realizar a leitura das soluções em no máximo 30 minutos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e álcool metílico (4:4:2).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 10 mg de diazepam e transferir para balão volumétrico de 50 mL, com o auxílio de 40

mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Agitar, mecanicamente, por cinco minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a *Fase móvel*, obtendo solução a 20 μg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de diazepam SQR e solubilizar em *Fase móvel* para obter solução a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a *Fase móvel*, obtendo solução a 20 μg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 5000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIAZEPAM SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{13}ClN_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **C.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **B**. O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C**.*

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, apresenta máximo de absorção em 368 nm e com a mesma intensidade relativa daqueles observados no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio e álcool metílico (10:1), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): diluir a solução injetável em álcool metílico de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução (2): pesar, com exatidão, quantidade de diazepam SQR, solubilizar em álcool metílico, de modo a obter solução de concentração 1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Nebulizar com ácido sulfúrico a 10% (p/v) em álcool etílico absoluto, aquecer a placa a 105 °C por 10 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,2 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 11,6 UE/mg de diazepam.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução injetável equivalente a 10 mg de diazepam para funil de separação e adicionar 20 mL de tampão fosfato pH 7,0. Extrair com quatro porções de 20 mL de clorofórmio, passando os extratos em 5 g de sulfato de sódio anidro. Reunir os extratos em balão volumétrico de

100 mL e completar o volume com clorofórmio. Homogeneizar. Evaporar alíquota de 10 mL, sob corrente de nitrogênio, até secura. Solubilizar o resíduo com 25 mL de ácido sulfúrico metanólico 0,05 *M*. Preparar solução padrão nas mesmas condições da solução amostra. Medir a absorvância da solução amostra e solução padrão em 368 nm, utilizando ácido sulfúrico metanólico 0,05 *M* para o ajuste do zero.Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ na solução injetável a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1% 1 cm)=151, em 368 nm.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento por 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,4 mL/minuto.

Fase móvel: preparar uma solução filtrada e desgaseificada de álcool metílico e água (65:35).

Solução padrão interno: preparar uma solução de *p*-tolualdeído contendo cerca de 0,3 µL/mL em álcool metílico.

Solução amostra: transferir, com exatidão, um volume da solução injetável, equivalente a 10 mg de diazepam, para um balão volumétrico de 50 mL. Transferir 10 mL da *Solução padrão interno* para a *Solução da amostra* e diluir com álcool metílico para o volume final e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de diazepam SQR, solubilizar em álcool metílico e diluir com o mesmo solvente para obter uma solução a 1 mg/mL. Transferir 5,0 mL dessa solução e 5 mL da *Solução padrão interno* para um balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução* padrão. O fator de cauda para o pico do diazepam é, no máximo, 2,5 e a resolução entre os picos de *p*-tolualdeído e diazepam é, no mínimo, 3,5. O desvio padrão para as replicatas das injeções é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da Solução padrão e da Solução amostra, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos principais. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,5 para *p*-tolualdeído e 1,0 para o diazepam. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra* por meio da fórmula:

$$50 \times \frac{C}{V} \times \frac{Ru}{Rs}$$

em que *C* é a concentração em mg/mL de diazepam SQR na *Solução padrão, V* é o volume em mL da solução injetável tomada e *Ru* e *Rs* são as razões das respostas dos picos de diazepam para o *p*-tolualdeído obtido da *Solução amostra* e da *Soluções padrão*, respectivamente.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

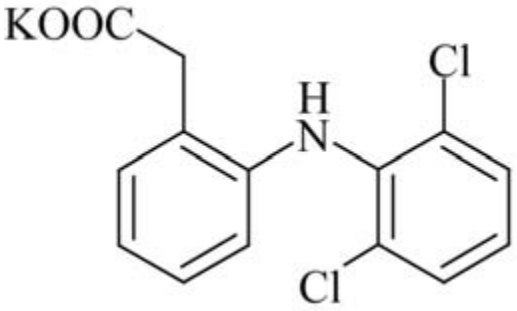
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

DICLOFENACO POTÁSSICO

Diclofenacum kalicum



$C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$; 334,24
diclofenaco potássico; 02929
Sal de potássio do ácido 2-[(2,6-diclorofenil)amino]benzenoacético (1:1)
[*15307-81-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou levemente amarelada, ligeiramente higroscópico.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 295 °C a 300 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se forem realizados os testes* **A.** *e* **D**. *O teste de identificação* **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.**, **C.** *e* **D.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de diclofenaco potássico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 a 350 nm, de solução a 0,001% (p/v) em hidróxido de potássio 0,1 *M*, há máximos em 218 e 275 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de diclofenaco potássico SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} como suporte, e mistura de hidróxido de amônio, álcool metílico e acetato de etila (10:10:80), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar, com exatidão, 25 mg de amostra, solubilizar em álcool metílico e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): pesar, com exatidão, 25 mg de diclofenaco potássico SQR, solubilizar em álcool metílico e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): diluir 10 mg de indometacina SQR com a *Solução (2)* e completar o volume para 2 mL com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar duas manchas nitidamente separadas.

D. Pesar, com exatidão, 0,5 g da amostra e solubilizar em 10 mL de água. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico diluído, agitar por uma hora e filtrar sob pressão reduzida. Neutralizar com hidróxido de sódio 5 *M*. Satisfaz à reação 2 do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 5% (p/v) em álcool metílico é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)** e a absorvância da solução no ultravioleta, determinada em 440 nm, não é superior a 0,05.

pH (5.2.19). 7,0 a 8,5. Determinar em solução aquosa a 1,0% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as *Soluções (1)* e *(2)* como descrito a seguir.

Diluente: mistura de água e álcool metílico (30:70).

Solução (1): pesar, com exatidão, 50 mg de amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*.

Solução (2): transferir 2 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Diluente*. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Nenhum pico secundário, obtido com a *Solução (1*) apresenta área superior à área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (2)* (0,2%). A soma de todas as áreas, de todos os picos, exceto o pico principal, no cromatograma da *Solução (1)* não é superior a 2,5 vezes a área sob o pico principal, obtido no cromatograma da *Solução (2)* (0,5%). No cromatograma da *Solução (1)*, desprezar qualquer pico cuja área seja menor que 0,25 vezes a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (2)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Pesar 2,0 g da amostra. Incinerar entre 500 °C e 600 °C. Se o resíduo não se apresentar completamente branco após a incineração, adicionar quantidade suficiente de peróxido de hidrogênio para solubilizar. Aquecer até completa evaporação. Repetir o procedimento até obter resíduo completamente branco e prosseguir conforme descrito no *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa, entre 100 °C e 105 °C, por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,3 g de amostra e solubilizar em 30 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 33,424 mg de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 mm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 2,5: homogeneizar iguais volumes de ácido fosfórico a 0,05% (p/v) e fosfato de sódio monobásico a 0,08% (p/v). Se necessário ajustar o pH para 2,5 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 2,5* e álcool metílico (30:70).

Diluente: mistura de água e álcool metílico (30:70).

Solução amostra: pesar, com exatidão, quantidade da amostra e solubilizar em *Diluente* de modo a obter solução a 40 μg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de diclofenaco potássico SQR e solubilizar em *Diluente* de modo a obter solução a 40 μg/mL.

Solução de resolução: pesar, com exatidão, 2,0 mg de dietilftalato, 10,0 mg de diclofenaco potássico SQR e 1,0 mg de 1-(2,6-diclorofenil)-1,3-di-hidro-2*H*-indol-2-ona (*Impureza A*), transferir para balão volumétrico de 200 mL, completar volume com *Diluente* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,5 para o dietilftalato, 0,7 para a *Impureza A* e 1 para o diclofenaco potássico. A resolução entre dietilftalato e a *Impureza A* é, no mínimo, 4,0; e entre a *Impureza A* e o diclofenaco potássico é, no mínimo, 6,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

DICLOFENACO POTÁSSICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$. Os comprimidos podem ter revestimento açucarado ou filme. Neste caso, não devem cumprir com os testes de friabilidade e dureza.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,15 g de diclofenaco potássico, solubilizar com 0,5 mL de ácido acético glacial e 15 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e agitar por mais um minuto. Filtrar e recolher o filtrado com 15 mL de água. Filtrar o sólido formado sob pressão reduzida, lavar com quatro porções de 5 mL de água e secar a 105 °C por duas a três horas. Pesar, com exatidão, 50 mg de diclofenaco potássico SQR, solubilizar em 5 mL de álcool metílico, 0,5 mL de ácido acético glacial, 15 mL de água e agitar. Filtrar o sólido formado sob pressão reduzida, lavar com quatro porções de 5 mL de água e secar a 105 °C por duas a três horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observadas no espectro de diclofenaco potássico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos em 218 e 275 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* na monografia de *Diclofenaco potássico*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): Pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 50 mg de diclofenaco potássico transferir para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 7 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,8 ± 0,05, 900 mL
Aparelhagem: pás, 40 rpm

Tempo: 60 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com tampão fosfato pH 6,8 ± 0,05, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 276 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de diclofenaco potássico SQR na concentração de 0,005% (p/v), preparada em tampão fosfato pH 6,8 ± 0,05.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* na monografia de *Diclofenaco potássico*. Preparar as *Soluções (1)* e *(2)* como descrito a seguir.

Diluente: mistura de água e álcool metílico (30:70).

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 50 mg de diclofenaco potássico, transferir para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 30 mL de *Diluente*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter uma solução a 1 mg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): transferir 2 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o *Diluente*, de modo a obter uma solução a 2 μg/mL. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Nenhum pico secundário obtido com a *Solução (1*) deve apresentar área superior à área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (2)* (0,2%). A soma de todas as áreas, de todos os picos, exceto o pico principal, no cromatograma da *Solução (1)* não deve ser superior a 2,5 vezes a área sob o pico principal, obtido no cromatograma da *Solução (2)* (0,5%). No cromatograma da *Solução (1)*, desprezar qualquer pico cuja área seja menor que 0,25 vezes a área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (2)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 50 mg de diclofenaco potássico, transferir para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para um balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar, a fim de obter uma solução a 50 μg/mL. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 276 nm, utilizando

hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* na monografia de *Diclofenaco potássico*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir:

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 25 mg de diclofenaco potássico e transferir para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Diluente*. Deixar em banho de ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o *Diluente*, de modo a obter uma solução a 40 µg/mL. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

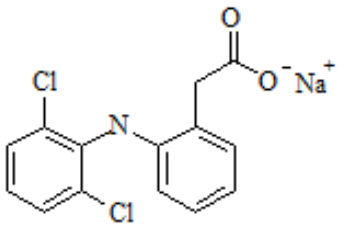
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DICLOFENACO SÓDICO

Diclofenacum natricum



$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$; 318,13
diclofenaco sódico; 02930
2-[2-(2,6-dicloroanilino)fenil]acetato de sódio
[*15307-79-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca. Higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em álcool metílico, solúvel em álcool etílico e ligeiramente solúvel em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de diclofenaco sódico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar 10 mg da amostra e solubilizar em 10 mL de álcool etílico R. A 1 mL da solução obtida transferir 0,2 mL de uma solução previamente preparada contendo quantidades iguais de ferricianeto de potássio 0,6% e cloreto férrico 0,9%. Manter em repouso e protegido da luz por cinco minutos. Adicionar 3 mL de uma solução de ácido clorídrico 1,0% e manter em repouso e protegido da luz por mais 15 minutos. Surge cor azul e formação de precipitado.

C. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* a 5% (p/v) satisfaz às reações de íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Preparar solução da amostra a 5% (p/v) em álcool metílico. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e a absortividade **(5.2.14)** em 440 nm é, no máximo, 0,05.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm); mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 2,5: homogeneizar volumes iguais de ácido fosfórico 0,01 *M* e fosfato de sódio monobásico 0,01 *M*. Se necessário ajustar o pH para 2,5 ± 0,2 com componente apropriado.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e tampão fosfato pH 2,5 (70:30), filtrada e desgaseificada.

Solução diluente: mistura de álcool metílico e água (70:30).

Solução padrão: preparar, com exatidão, solução a 0,75 mg/mL de diclofenaco impureza A SQR em álcool metílico. Diluir quantidade adequada dessa solução em *Solução diluente* de modo a obter solução a 1,5 µg/mL.

Solução resolução: preparar, com exatidão, uma solução em *Solução diluente* contendo 20 µg de dietilftalato, 7,5 µg diclofenaco impureza A SQR e 0,75 mg de diclofenaco SQR por mL.

Solução amostra: preparar, com exatidão, solução a 0,75 mg/mL de diclofenaco sódico em *Solução diluente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. Registrar todos os cromatogramas por um período correspondente a 2,5 vezes o tempo de retenção de diclofenaco SQR. Calcular a porcentagem de diclofenaco impureza A SQR em relação à diclofenaco sódico, por meio da seguinte fórmula:

$$10\left(^{C}/_{W}\right)\left(^{r_U}/_{r_S}\right)$$

em que *C* é a concentração em µg/mL de diclofenaco impureza A SQR na *Solução* padrão; *W* é a quantidade em mg de diclofenaco sódico na *Solução amostra*; e r_u e r_s são as respostas obtidas para os picos de diclofenaco impureza A SQR na *Solução amostra* e na *Solução padrão*, respectivamente. A porcentagem encontrada é, no máximo, 0,2%. Calcular a porcentagem para qualquer outra impureza presente por meio da seguinte fórmula:

$$10\left(^{C}/_{W}\right)\left(^{r_i}/_{r_S}\right)$$

Em que r_i é a resposta obtida para a impureza na *Solução amostra* e os demais termos são os mesmos descritos anteriormente. A porcentagem encontrada é, no máximo, 0,2%. O somatório de todas as porcentagens obtidas é, no máximo, 0,5%.

pH (5.2.19). 7,0 a 8,5. Determinar em solução a 1,0% (p/v).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar a 105 °C por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra previamente dessecada e solubilizar em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* e determinar o ponto final

potenciometricamente. Fazer prova em branco e correções, se necessário. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* equivale a 31,81 mg de diclofenaco sódico.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

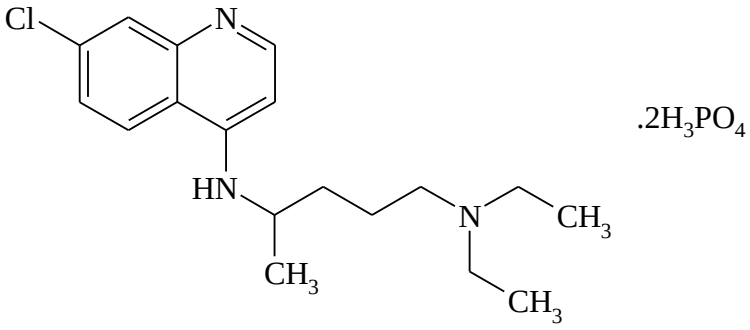
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

DIFOSFATO DE CLOROQUINA

Cloroquini diphosphas



$C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$; 515,87
difosfato de cloroquina; 02489
Bis(diidrogenofosfato) de N^4-(7-cloro-4-quinolinil)-N^1,N^1-dietil-1,4-pentanodiamina
[*50-63-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração branca ou quase branca, higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico e álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 193 °C a 195 °C para um dos polimorfos e 215 °C a 218 °C para o outro polimorfo.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D**. O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**.*

A. Pesar 0,1 g da amostra, transferir para funil de separação com 10 mL de água. Transferir 2 mL de hidróxido de sódio 2 *M* e extrair com duas porções de 20 mL de cloreto de metileno. Combinar os extratos orgânicos, lavar com água, secar com sulfato de sódio anidro e evaporar até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, dissolvido em 2 mL de cloreto de metileno, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de difosfato de cloroquina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de difosfato de cloroquina SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 343 nm e 329 nm está compreendida entre 1,00 e 1,15.

C. Pesar 25 mg da amostra, solubilizar em 20 mL de água, acrescentar 8 mL de ácido pícrico a 1% (p/v). Forma-se precipitado amarelo. Lavar o precipitado, sucessivamente, com água, álcool etílico e cloreto de metileno. Deixar secar. O resíduo funde entre 206 °C e 209 °C.

D. Pesar 0,1 g da amostra, solubilizar em 10 mL de água, acrescentar 2 mL de hidróxido de sódio 2 *M* e extrair com duas porções de 20 mL de cloreto de metileno. A camada aquosa, acidificada com ácido nítrico, satisfaz à reação 2 do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,8 a 4,3. Determinar em solução a 10,0% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 °C, por 16 horas. No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra e solubilizar em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 25,794 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de água e solubilizar. Completar o volume com ácido clorídrico a 0,1% (p/v). Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico a 0,1% (p/v), até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 343 nm, utilizando ácido clorídrico a 0,1% (p/v) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

DIFOSFATO DE CLOROQUINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C**.*

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade equivalente a 0,1 g de difosfato de cloroquina transferir para funil de separação e solubilizar em 10 mL de água. Transferir 2 mL de hidróxido de sódio 2 *M* e extrair com duas porções de 20 mL de clorofórmio. Combinar os extratos orgânicos, lavar com água, secar com sulfato de sódio anidro e evaporar até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, dissolvido em 2 mL de clorofórmio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de difosfato de cloroquina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,1 g de difosfato de cloroquina e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Acrescentar 70 mL de água, deixar em banho de ultrassom por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente (usar essa solução, também, nos testes **C.** e **D.** de *Identificação*). Filtrar. Diluir, sucessivamente, com água até concentração de 0,001% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução resultante há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de difosfato de cloroquina SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 343 nm e 329 nm está compreendida entre 1,00 e 1,15.

C. Acrescentar 5 mL de ácido pícrico SR1 a 20 mL da primeira solução obtida no teste **B.** de *Identificação*. Forma-se precipitado amarelo. Filtrar e lavar o precipitado com água até que a última água de lavagem seja incolor. Secar sobre sílica-gel. O resíduo obtido funde entre 205 °C e 210 °C.

D. A solução obtida no teste **B.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 343 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo

solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de difosfato de cloroquina SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 0,5 g de difosfato de cloroquina e solubilizar com 20 mL de hidróxido de sódio *M*. Transferir, quantitativamente, para funil de separação de 250 mL e extrair com quatro porções de 25 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e evaporar em banho-maria até o volume de 10 mL. Acrescentar 40 mL de anidrido acético e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 25,794 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,8 g de difosfato de cloroquina, transferir para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 100 mL de água. Agitar mecanicamente por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Filtrar, descartando os primeiros 50 mL do filtrado. Transferir 50 mL do filtrado para funil de separação e acrescentar 5 mL de hidróxido de amônio 6 *M*. Agitar e extrair com cinco porções de 25 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e lavar com 10 mL de água. Lavar a fase aquosa com 10 mL de clorofórmio. Evaporar os extratos clorofórmicos combinados em banho-maria até o volume de 10 mL. Adicionar 50 mL de ácido clorídrico a 0,1% (v/v) e continuar a evaporar até que o odor do clorofórmio não seja mais perceptível. Transferir a solução resultante para balão volumétrico de 200 mL, lavando as paredes do frasco com ácido clorídrico a 0,1% (v/v) e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico a 0,1% (v/v), até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando ácido clorídrico a 0,1% (v/v) como solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 343 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

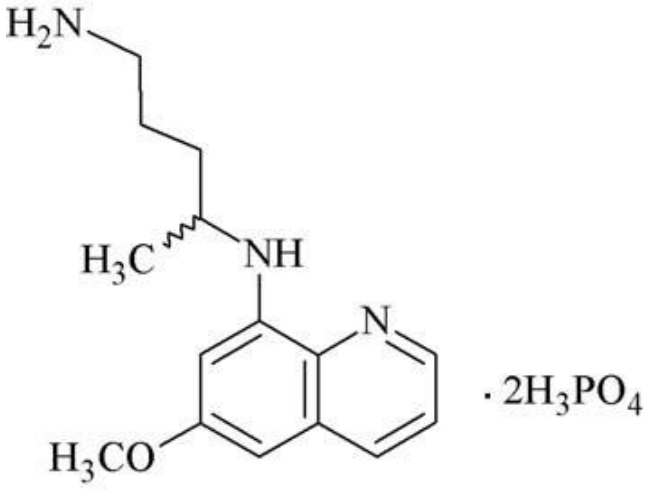
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura controlada.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIFOSFATO DE PRIMAQUINA

Primaquini diphosphas



$C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$; 455,34
difosfato de primaquina; 07367
Fosfato de *N*4-(6-metoxi-8-quinolinil)-1,4-pentanodiamina (2:1)
[*63-45-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração alaranjada.

Solubilidade. Solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

Características físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 197 ºC a 198 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de difosfato de primaquina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O resíduo obtido por ignição da amostra satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**, porém o precipitado obtido com a adição de nitrato de prata SR é branco e o obtido com a adição de molibdato de amônio SR é amarelo.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,5 a 3,5. Determinar em solução aquosa a 1,0% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 261 nm; coluna de 200 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel (10 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 3 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de *n*-hexano, clorofórmio, álcool metílico e solução concentrada de amônia (45:45:10:0,1).

Solução (1): pesar, com exatidão, 50 mg de difosfato de primaquina SQR, transferir para balão volumétrico de 5 mL em água e completar o volume com o mesmo solvente. A 1 mL dessa solução, transferir 0,2 mL de solução concentrada de amônia e homogeneizar com 10 mL da *Fase móvel*. Utilizar a camada límpida inferior.

Solução (2): pesar, com exatidão, 50 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 5 mL em água e completar o volume com o mesmo solvente. A 1 mL dessa solução, transferir 0,2 mL de solução concentrada de amônia e homogeneizar com 10 mL da *Fase móvel*. Utilizar a camada límpida inferior.

Solução (3): diluir 3 mL da *Solução (2)* para 100 mL com a *Fase móvel*.

Solução (4): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 10 mL com a *Fase móvel*. Diluir 1 mL da solução resultante para 50 mL com a *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL de cada solução e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. A soma das áreas de todos os picos obtidos com a *Solução (2)*, exceto a do pico do solvente, não é maior que a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (3)* (3%). Não considerar picos com área inferior àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (4)* (0,2%). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (1)* apresenta, antes do pico principal, um pico com área de aproximadamente 6% do pico da primaquina; a resolução entre os dois picos é de, no mínimo, 2,0 e, no cromatograma obtido com a *Solução (4)*, a relação sinal/ruído é superior a 5.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, 0,2 g da amostra e solubilizar em 40 mL de ácido acético glacial, aquecendo moderadamente. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 22,767 mg de $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em frascos âmbar, hermeticamente fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

DIFOSFATO DE PRIMAQUINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó contendo o equivalente a 60 mg de primaquina e transferir para funil de separação. Adicionar 10 mL de água, 2 mL de hidróxido de sódio 2 *M* e extrair com duas porções de 20 mL de clorofórmio, agitando por 10 minutos. Filtrar em filtro contendo sulfato de sódio anidro, evaporar até a secura e solubilizar o resíduo em 2 mL de clorofórmio. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da solução obtida há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de difosfato de primaquina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó contendo o equivalente a 25 mg de difosfato de primaquina, solubilizar em 10 mL de água e filtrar. O filtrado, após neutralização com 2 mL de ácido nítrico 2 *M*, satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com grupos octadecilsilano quimicamente ligados a sílica porosa ou partículas de cerâmica (3 mm a 10 mm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/ minuto.

Solução aquosa de 1-pentanossulfonato de sódio: pesar 961 mg de 1-pentanossulfonato de sódio e solubilizar utilizando 1 mL de ácido acético glacial a 400 mL de água. Homogeneizar.

Fase móvel: mistura filtrada e desgaseificada de álcool metílico e *Solução aquosa de 1-pentanossulfonato de sódio* (60:40).

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com meio de dissolução, até concentração adequada.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de difosfato de primaquina SQR e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* para obter solução a 0,003% (p/v).

Procedimento: injetar, separadamente, 20 mL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *amostra*.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 4%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão quantidade do pó equivalente a 0,15 g de difosfato de primaquina e solubilizar em 20 mL de água. Transferir, quantitativamente, para funil de separação de 250 mL. Adicionar 5 mL de hidróxido de sódio 2 *M* e extrair com quatro porções de clorofórmio de 25 mL cada. Combinar os extratos clorofórmicos e evaporar até volume de aproximadamente 10 mL. Adicionar 40 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 22,768 mg de $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$.

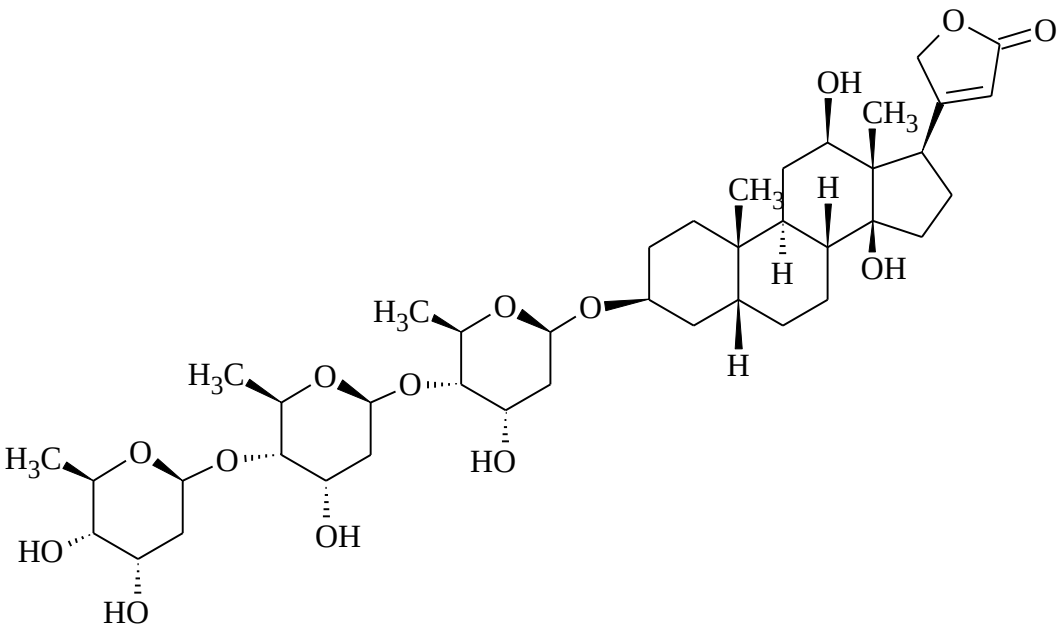
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIGOXINA
Digoxinum



$C_{41}H_{64}O_{14}$; 780,94
digoxina; 03010
(3*β*,5*β*,12*β*)-3-[(*O*-2,6-Didesoxi-*β*-D-*ribo*-hexopiranosil-(1→4)-*O*-2,6-didesoxi-*β*-D-ribo-hexopiranosil-(1→4)-2,6-didesoxi-*β*-D-*ribo*-hexopiranosil)oxi]-12,14-diidroxicard-20(22)-enolídeo
[*20830-75-5*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{41}H_{64}O_{14}$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou cristais de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em mistura de álcool etílico e água e em piridina.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +10,0 a +13,0, em relação à substância dessecada. Determinar na solução a 2,0% (p/v) em piridina anidra.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os ensaios* ***B.***, ***D.*** *e* ***E***. *O teste de identificação* ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os ensaios* ***C.***, ***D.*** *e* ***E***.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada em estufa sob pressão reduzida a 105 °C por uma hora, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de

absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de digoxina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar, com exatidão, 0,5 mg de amostra e solubilizar em 0,2 mL de álcool etílico a 60% (v/v). Adicionar 0,1 mL de ácido 3,5-dinitrobenzóico a 2% (p/v) em álcool etílico e 0,1 mL de hidróxido de sódio SR. Desenvolve-se coloração violeta.

E. Pesar, com exatidão, 0,5 mg da amostra, solubilizar em 1 mL de ácido acético glacial, aquecer suavemente, esperar esfriar e transferir 0,05 mL de cloreto férrico SR. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico, evitando homogeneizar as duas fases. Desenvolve-se anel marrom na interface, que deve mudar para verde. Logo após, a fase superior deve mudar para azul.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 0,5% (p/v) em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:1) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel de fase reversa, quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, como suporte, e mistura de álcool metílico e água (7:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em mistura de clorofórmio e álcool metílico (2:1).

Solução (2): solução a 10 mg/mL de digoxina SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (2:1).

Solução (3): solução a 0,3 mg/mL de gitoxina SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (2:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido tricloroacético-cloramina-T SR. Aquecer em estufa a 110 °C por 10 minutos e examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma da *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (3,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra, em estufa sob pressão reduzida a 105 °C por uma hora. No máximo 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar na amostra submetida ao teste de *Perda por dessecação*. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 40 mg da amostra e solubilizar em álcool etílico. Aquecer se necessário e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em álcool etílico até concentração de 0,004% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. A 5 mL de cada solução diluída, transferir 3 mL de picrato de sódio alcalino SR e deixar em repouso, por 30 minutos, ao abrigo da luz. Medir as absorvâncias das soluções amostra e padrão resultantes, em 495 nm, utilizando mistura de 5 mL de álcool etílico e 3 mL de picrato de sódio alcalino SR para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{41}H_{64}O_{14}$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 218 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,2 mm de diâmetro interno empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (70:30).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 20 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 35 mL de mistura de álcool etílico e água (1:1) e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Completar o volume e homogeneizar. Diluir com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 20 mg de digoxina SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 35 mL de mistura de álcool etílico e água (1:1) e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Completar o volume e homogeneizar. Diluir com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

A eficiência da coluna deve ser, no mínimo, 4800 pratos teóricos/metro. O fator de cauda do pico de digoxina deve ser, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{41}H_{64}O_{14}$ na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Glicosídeo cardiotônico.

DIGOXINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Digoxina*, utilizando as seguintes soluções.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,5 mg de digoxina, transferir para um tubo de centrífuga com o auxílio de 2 mL de mistura de clorofórmio e álcool metílico (2:1). Agitar por 10 minutos e centrifugar. Decantar e usar o sobrenadante límpido.

Solução (2): solução de digoxina SQR a 0,25 mg/mL em mistura de clorofórmio e álcool metílico (2:1).

Desenvolver o cromatograma. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 10 mL contendo 7 mL de mistura de álcool etílico e água (1:1) e aguardar a desintegração total do comprimido. Deixar em banho de ultrassom por 30 minutos e completar o volume com o mesmo diluente. Homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar *Solução padrão* na mesma concentração da *Solução amostra*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*; 500 mL
Aparelhagem: cestas, 120 rpm
Tempo: 60 minutos
Solução padrão: pesar, com exatidão, 25 mg de digoxina SQR, transferir para balão volumétrico de 500 mL e solubilizar com pequena quantidade de álcool etílico. Completar o volume com álcool etílico a 80% (v/v) e homogeneizar. Transferir uma alíquota de 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool etílico a 80% (v/v). Transferir alíquotas dessa solução para balão volumétrico de 50 mL para preparar curva padrão equivalente a 20%, 40%,

60%, 80% e 100% da quantidade declarada de digoxina em 500 mL e completar o volume com o *Meio de dissolução*.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar em filtro de porosidade inferior a 0,8 mm e descartar os primeiros 10 mL. Transferir, para frascos individuais com tampa, em duplicata, 1 mL da solução amostra, 1 mL da solução da curva padrão e 1 mL do *Meio de dissolução* para o preparo do branco e adicionar, rapidamente, os seguintes reagentes: 1 mL de solução de ácido ascórbico a 0,2% (p/v) em álcool metílico, 5 mL de ácido clorídrico e 1 mL de peróxido de hidrogênio metanólico. Agitar após a adição de cada reagente. Fechar os frascos e após duas horas medir a fluorescência das soluções em comprimento de onda de excitação de 372 nm e de emissão de 485 nm. Para verificar a estabilidade do fluorímetro, repetir a leitura de fluorescência nas soluções da curva padrão. Corrigir as leituras pelo branco e analisar os resultados plotando curva padrão de fluorescência em função da porcentagem de dissolução.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$ se dissolvem em 60 minutos. Se existir a necessidade de realização do estágio E_2 **(5.1.5)** o critério de aceitação da média de 12 unidades é igual ou maior do que Q e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a Q - 5%.

Atenção. As cubas de dissolução devem ser lavadas, sucessivamente, antes do teste, com ácido clorídrico, água e álcool etílico e cuidadosamente secas. Estas precauções são tomadas para prevenir contaminações por partículas metálicas provenientes de materiais de limpeza.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade do pó equivalente a 1,25 mg de digoxina, adicionar 3 mL de água e agitar. Deixar em repouso por 10 minutos e agitar ocasionalmente. Adicionar 25 mL de ácido acético glacial, agitar por uma hora e filtrar. Transferir 4 mL do filtrado e 1 mL de dimetilsulfóxido para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com reagente de xantidrol, homogeneizar e deixar em repouso, ao abrigo da luz, por quatro horas. Preparar solução padrão nas mesmas condições, utilizando os mesmos solventes. Preparar o branco utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 545 nm, utilizando o branco para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{41}H_{64}O_{14}$ nos comprimidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 218 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,2 mm de diâmetro interno empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (70:30).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 1 mg de digoxina, transferir para balão volumétrico de 25 mL. Adicionar 15 mL da mistura de álcool etílico e água (1:1) e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Completar o volume e homogeneizar, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 20 mg de digoxina padrão e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 35 mL de mistura de álcool etílico e água (1:1) e deixar em banho de ultrassom por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

A eficiência da coluna não deve ser menor do que 4800 pratos teóricos/metro. O fator de cauda do pico de digoxina não deve ser maior do que 2. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados não deve ser maior que 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{41}H_{64}O_{14}$ nos comprimidos**,** a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIGOXINA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 105% da quantidade declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando placa de sílica-gel de fase reversa, quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, com 0,25 mm de espessura, como suporte, e mistura de álcool metílico e água (7:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume da solução oral equivalente a 0,5 mg de digoxina e 5 mL de água para funil de separação. Extrair com três porções de 10 mL de clorofórmio. Combinar os extratos orgânicos e evaporar até a secura em banho-maria com o auxílio de corrente de ar para a secagem. No caso de traços de água ou propilenoglicol remanescentes, secar sob pressão reduzida a 100 °C por 30 minutos. Solubilizar o resíduo em 2 mL de mistura de clorofórmio e álcool metílico (2:1).

Solução (2): pesar, com exatidão, quantidade de digoxina SQR em mistura de álcool metílico e água (7:3) e diluir com o mesmo solvente para obter solução a 0,25 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma em percurso de 15 cm. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido tricloroacético-cloramina-T SR recém preparada. Aquecer em estufa a 110 °C por 10 minutos e examinar sob luz ultravioleta (365 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 218 nm; coluna de 150 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 de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e álcool isopropílico (70:27,5:2,5).

Solução amostra: transferir com exatidão volume da solução oral, equivalente a 0,5 g de digoxina, para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com álcool etílico a 42% (p/p) e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, quantidade de digoxina SQR e solubilizar em álcool etílico a 42% (p/p) para obter uma solução a 20 μg/mL.

Injetar replicatas de 10 μL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos principais. Calcular a quantidade de $C_{41}H_{64}O_{14}$ na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

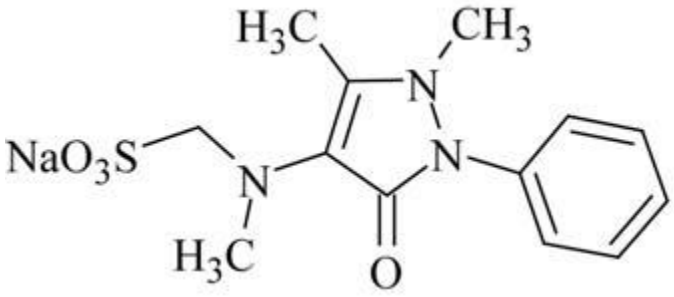
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIPIRONA MONOIDRATADA

Dipyronum monohydricum



$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$; 351,35
dipirona monoidratada; 09564
Sal de sódio do ácido 1-[(2,3-di-hidro-1,5-dimetil-3-oxo-2-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metilamino] metanossulfônico hidratado (1:1:1)
[*5907-38-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água e álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de dipirona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A solução aquosa a 5% da amostra satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Pesar 2,5 g da amostra e solubilizar em água isenta de dióxido de carbono e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. A preparação apresenta-se límpida **(5.2.25)**. Imediatamente após a preparação, comparar 5 mL da solução da amostra com 5 mL da *Solução padrão de cor*, descrita a seguir. A cor não é mais intensa que a da solução padrão de cor **(5.2.12)**.

Solução padrão de cor: homogeneizar 0,75 mL da *Solução (1)*, 0,25 mL da *Solução (2)*, 0,25 mL da *Solução (3)* e 48,75 mL da *Solução (4)*.

Solução (1): pesar 4,51 g de cloreto férrico, solubilizar em 3,2 mL de ácido clorídrico *M* e completar o volume com água para 100 mL.

Solução (2): pesar 6,5 g de cloreto cobaltoso solubilizar em 3 mL de ácido clorídrico 6 *M* e completar o volume com água para 100 mL.

Solução (3): pesar 6,242 g de sulfato cúprico pentaidratado solubilizar em água e completar o volume para 100 mL.

Solução (4): ácido clorídrico 1% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. Adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI a 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. A cor da preparação não sofre alteração. A viragem do indicador para rosa consome no máximo 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* em relação ao branco.

Impurezas solúveis em clorofórmio. Pesar 1 g de amostra, adicionar 10 mL de clorofórmio, deixar em repouso durante 30 minutos. Filtrar e lavar duas vezes com 5 mL de clorofórmio. Evaporar em banho-maria e secar a 105 ºC até peso constante. No máximo 0,5%.

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Método I.* No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). No máximo 0,1% (1000 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,25 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, até peso constante. No mínimo 4,9% e no máximo 5,3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, 0,35 g da amostra e solubilizar em 50 mL de água. Adicionar 3 mL de ácido acético 6% (v/v) e titular com iodo 0,05 *M* SV em temperatura abaixo de 20 °C, utilizando amido SI. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 16,67 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S$ ou a 17,57 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico e antipirético.

DIPIRONA MONOIDRATADA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar quantidade de pó equivamente a 0,5 g de dipirona monoidratada e adicionar algumas gotas de peróxido de hidrogênio concentrado. Desenvolve-se uma coloração azul, que desaparecerá rapidamente passando a vermelha intensa (reação fortemente exotérmica).

B. Misturar 0,5 g do pó dos comprimidos com algumas gotas de persulfato de potássio a 10% (p/v). Desenvolve coloração amarelo intensa após cinco minutos de reação.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de dose unitária (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 500 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm
Tempo: 45 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 258 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$, dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a solução de dipirona SQR em concentração conhecida, preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 0,35 g de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$ e transferir, quantitativamente, para erlenmeyer. Adicionar 25 mL de água, 5 mL de ácido acético glacial e agitar até dispersão homogênea. Titular com iodo 0,05 *M* SV, em temperatura abaixo de 15 °C, utilizando 1 mL de amido SI, como indicador. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 17,57 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIPIRONA MONOIDRATADA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 2 mL da solução oral, transferir 2 mL de peróxido de hidrogênio 30% (p/p). Desenvolve-se coloração azul, que desaparece rapidamente, passando a vermelho intenso.

B. A 2 mL da solução oral, transferir 2 mL de persulfato de potássio 10% (p/v). Desenvolve-se coloração amarela intensa.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,0.

Teste de gotejamento (5.1.8). Dipirona solução oral acondicionada em recipientes com dispositivo dosador integrado cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir volume da solução oral correspondente a 5 g de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$ para balão volumétrico de 200 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução, 50 mL de água, 5 mL de ácido acético glacial para erlenmeyer, e homogeneizar. Titular com iodo 0,05 *M* SV, em temperatura abaixo de 15 ºC, utilizando amido SI como indicador. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 17,57 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

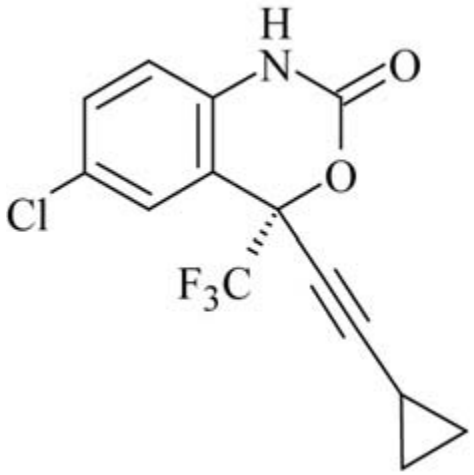
Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

EFAVIRENZ

Efavirenzum



$C_{14}H_9ClF_3NO_2$; 315,67
efavirenz; 03308
(4*S*)-6-Cloro-4-(2-ciclopropiletinil)-1,4-di-hidro-4-(trifluormetil)-2*H*-3,1-benzoxazin-2-ona
[*154598-52-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 136 ºC a 141 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -86 a -98, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 0,3% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de efavirenz SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução a 0,001% (p/v) em álcool metílico, há máximos em 206 nm, 247 nm e 293 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de efavirenz SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo ciano (5 µm), mantida à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Nota: *o ácido trifluoracético deve ser utilizado preferencialmente até seis meses após a abertura do frasco.*

Eluente (A): mistura de água, álcool metílico e ácido trifluoracético (90:10:0,05).

Eluente (B): mistura de água, álcool metílico e ácido trifluoracético (10:90:0,05).

Fase móvel: utilizar o gradiente de eluição descrito a seguir:

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 16	60 → 50	40 → 50	gradiente linear
16 – 23	50 → 35	50 → 65	gradiente linear
23 – 28	35 → 30	65 → 70	gradiente linear
28 – 29	30 → 20	70 → 80	gradiente linear
29 – 31	20	80	isocrática
31 – 32	20 → 60	80 → 40	gradiente linear

Equilibrar a coluna nas condições iniciais por 30 minutos. Proceder corrida em branco utilizando o gradiente descrito antes de injetar a *Solução (1),* a *Solução (2)* e a *Solução (3).* Ao final de cada corrida, reequilibrar a coluna por, pelo menos, oito minutos antes de iniciar nova corrida.

Diluente: mistura de água e acetonitrila (1:1).

Solução (1): solução a 500 µg/mL da amostra em *Diluente*.

Solução (2): solução a 500 µg/mL de efavirenz SQR em *Diluente*.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* com *Diluente* de modo a obter solução de efavirenz SQR a 1,25 µg/mL.

Injetar replicatas de 35 µL da *Solução (2).* A eficiência da coluna é, no mínimo, 30 000 pratos teóricos/metro. Injetar replicatas de 35 µL da *Solução (3)*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 5,0%. Injetar replicatas de 35 µL da *Solução (1)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,93 para (4S)-6-cloro-4-[(1-E)-ciclopropiletenil]-1,4-di-hidro-4-(trifluorometil)-2H-3,1-benzoxazin-2-ona (impureza *trans*-alqueno), se presente, e 1,0 para efavirenz. A resolução entre os picos é, no mínimo, 1,7.

Procedimento: injetar, separadamente**,** 35 µL da *Solução (1)* e da *Solução (3),* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de impureza *trans*-alqueno, se presente, na amostra, segundo a expressão:

$$1{,}1 \times 100 \times (C_{S3} \cdot At / C_{S1} \cdot Ae)$$

em que

1,1 = fator de quantificação para impureza *trans*-alqueno;
C_{S1} = concentração da amostra, em mg/mL, na *Solução (1)*;
C_{S3} = concentração do efavirenz SQR, em mg/mL, na *Solução (3)*;
A*t* = área sob o pico correspondente à impureza *trans-alqueno* no cromatograma obtido com a *Solução (1)*;
A*e* = área sob o pico correspondente ao efavirenz no cromatograma obtido com a *Solução (3)*.

No máximo 0,15% de impureza *trans*-alqueno. A soma das áreas de todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto os correspondentes ao efavirenz e à impureza *trans*-alqueno, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,5% de outras impurezas). Não considerar os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo 1,0%.

Água (5.2.20). No máximo 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, 50 mg de amostra e solubilizar em álcool metílico. Completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções amostra e padrão resultantes, em 247 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 252 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila, água e ácido ortofosfórico (70:30:0,1).

Diluente: utilizar a *Fase móvel.*

Solução amostra: pesar, com exatidão, 40 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*, obtendo uma solução a 20 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, 40 mg de efavirenz SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*, obtendo uma solução a 20 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antirretroviral.

EFAVIRENZ COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar quantidade de pó equivalente a 0,3 g de efavirenz e homogeneizar com 10 mL de éter etílico por um minuto. Filtrar em funil de vidro sinterizado, aplicando vácuo, se necessário. Lavar com duas porções de 5 mL de éter etílico e combinar os extratos etéreos em béquer de 50 mL. Evaporar sob corrente de ar à temperatura ambiente. Dessecar o resíduo em estufa a 60 °C por 30 minutos e resfriar à temperatura ambiente. Adicionar 3 mL de heptano, aquecer em banho-maria a 70 °C e solubilizar o resíduo com auxílio de espátula. Cobrir a boca do béquer com vidro de relógio, resfriar em banho de gelo a -10 °C por cinco minutos e deixar em repouso à temperatura ambiente por 25 minutos. Filtrar sob vácuo, lavar o resíduo com três porções de 2 mL de heptano e dividir finamente o resíduo com auxílio de espátula, mantendo vácuo por 10 minutos. Dessecar em estufa a 80 °C, sob pressão reduzida, por seis horas. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Efavirenz.*

B. O resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* funde em torno de 138 °C.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,1 g de efavirenz e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom por cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar, desprezando os primeiros mililitros do filtrado, e diluir com álcool metílico até concentração de 0,002% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, há máximos em 206 nm, 247 nm e 293 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de efavirenz SQR.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste. No máximo 60 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 1% (p/v), 900 mL.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com meio de dissolução até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 247 nm **(5.2.14)**, utilizando *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de efavirenz SQR na concentração de 0,0012% (p/v) com *Meio de dissolução*.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIO DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Efavirenz*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 0,25 g de efavirenz e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de *Diluente*, deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e deixar em repouso por 15 minutos. Filtrar, se necessário, e diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução a 250 µg/mL. No máximo 0,15% de impureza *trans*-alqueno e 1,0% de outras impurezas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão. quantidade do pó equivalente a 0,15 g de efavirenz e transferir para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 70 mL de álcool etílico absoluto. Deixar em banho de ultrassom por cinco minutos. Filtrar, se necessário, e diluir até concentração de 0,0075% (p/v) utilizando o mesmo solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções resultantes a 293 nm utilizando álcool etílico absoluto para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Efavirenz*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir:

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a 40 mg de efavirenz, transferir para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 40 mL de *Diluente* e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*, obtendo solução a 20 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

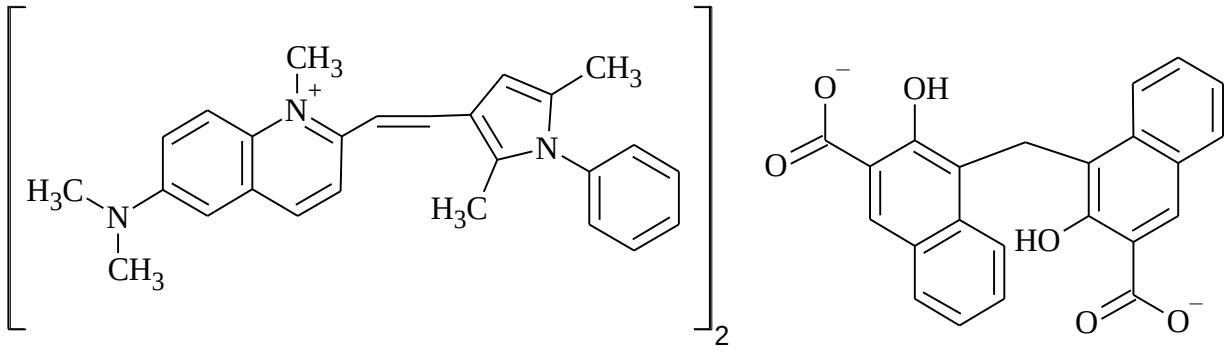
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

EMBONATO DE PIRVÍNIO

Pyrvinii embonas



$(C_{26}H_{28}N_3)_2.C_{23}H_{14}O_6$; 1151,39
embonato de pirvínio; 03346
4,4'-Metilenobis[3-hidroxi-2-naftalenocarboxilato] de 6-(dimetilamino)-2-[2-(2,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirrol-3-il)etenil]-1-metil-quinolínio (1:2)
[*3546-41-6*]

Contém, no mínimo, 96,0% e, no máximo, 104,0% de $(C_{26}H_{28}N_3)_2.C_{23}H_{14}O_6$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de coloração alaranjada-clara ou vermelha-alaranjada a quase negra.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, muito pouco solúvel em álcool metílico. Facilmente solúvel em ácido acético glacial.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de embonato de pirvínio SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 800 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos de absorvância em torno de 358 nm e 505 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos está compreendida entre 1,93 e 2,07.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20). Determinar em 0,2 g da amostra, empregando mistura de 10 mL de álcool metílico e 10 mL de clorofórmio como solvente. No máximo 6,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Nota: *utilizar frascos de baixo actinismo para as soluções, bem como protegê-las de exposição à luz forte. Fazer o doseamento sem interrupções prolongadas.*

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra e solubilizar em 125 mL de ácido acético glacial. Completar o volume para 250 mL com álcool metílico e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias da solução padrão e da solução amostra em 505 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $(C_{26}H_{28}N_3)_2.C_{23}H_{14}O_6$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos e opacos.

ROTULAGEM

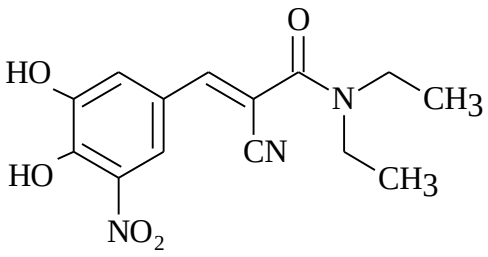
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico (oxiurose).

ENTACAPONA

Entacaponum



$C_{14}H_{15}N_3O_5$; 305,29
entacapona; 03415
(2*E*) -2-ciano-3-(3,4-di-hidroxi-5-nitrofenil)-*N*, *N*-dietilprop-2-enamida
[*130929-57-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_{15}N_3O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração amarela-esverdeada ou amarela. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de entacapona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 500 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão..

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução amostra* obtida no método **B.** de *Doseamento*.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução (1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico do solvente é, no máximo, 0,2% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,15% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vezes a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em mistura de dimetilformamida e álcool metílico (25:75 v/v). Preparar a solução de referência, utilizando 2 mL de solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb) em mistura de dimetilformamida e álcool metílico (25:75 v/v). Após a filtração, lavar o filtro com pelo menos 20 mL de álcool metílico. Proceder conforme descrito em *Método II*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra e dissolver em acetonitrila. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 305 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 305 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 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água pH 3,0, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico, de modo a obter solução a 20 µg/mL de entacapona..

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de entacapona SQR em álcool metílico de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar, obtendo solução a 20 µg/mL..

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna para o pico da entacapona é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Inibidor da catecol-*o*-metiltransferase (COMT).

ENTACAPONA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{15}N_3O_5$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se for realizado o teste* ***B.*** *O teste de identificação* ***B.*** *pode ser omitido se for realizado o teste* ***A.***

A. O espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método **A**. de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da *Solução padrão*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF254, como suporte, e mistura de isobutanol, álcool metílico, água e ácido fórmico anidro (667:95:95:143), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Levar a banho de ultrassom, durante 15 minutos, quantidade do pó equivalente a 10 mg de entacapona com 10 mL de álcool metílico e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de entacapona SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão acetato pH 5,3, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 11 mg de entacapona SQR para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 5 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom durante 30 minutos e completar o volume com solução tampão acetato pH 5,3. Diluir com álcool metílico de modo a obter solução a 44 µg/mL de entacapona.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em álcool metílico, de modo a obter solução a 44 µg/mL de entacapona.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ se dissolvem em 30 minutos.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): Utilizar a *Solução amostra* obtida no método **B.** de *Doseamento*.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução (1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos, à exceção dos provenientes do solvente. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto as sob o pico do solvente e sob os componentes do placebo, são, no máximo, 0,2% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,1% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,03 vezes a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente, com o mesmo procedimento da solução amostra do produto.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 mg de entacapona para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de acetonitrila. Deixar em banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 15 minutos e agitar mecanicamente por outros 15 minutos. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 305 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 305 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 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água pH 3,0, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de entacapona para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de álcool metílico. Deixar

em banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico de modo a obter solução a 20 µg/mL de entacapona.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de entacapona SQR em álcool metílico de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 20 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico da entacapona é, no mínimo, 10 000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

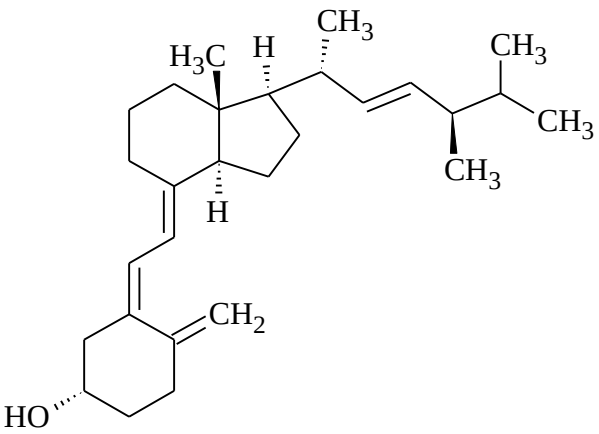
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ERGOCALCIFEROL

Ergocalciferolum



$C_{28}H_{44}O$; 396,65
ergocalciferol; 03477
(1*S*,3*Z*)-4-Metileno-3-[(2*E*)-2-[(1*R*,3a*S*,7a*R*)-octaidro-7a-metil-1-[(1*R*,2*E*,4*R*)-1,4,5-trimetil-2-hexen-1-il]-4*H*-inden-4-ilideno]etilideno]cicloexanol
[*50-14-6*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{28}H_{44}O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco a branco-amarelado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico e em óleos graxos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 115 °C a 119 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +103 a +106. Determinar em solução a 1,5% (p/v) em álcool etílico. Fazer a leitura em até 30 minutos após a solução ter sido preparada.

IDENTIFICAÇÃO

Nota: *proceder às análises ao abrigo da luz direta e empregar vidraria âmbar.*

Os testes de identificação ***B., C.*** *e* ***D.*** *podem ser omitidos se for realizado o teste* ***A.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ergocalciferol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 265 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de ergocalciferol SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de cicloexano e éter etílico (1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir. Realizar a análise ao abrigo da luz.

Solução (1): preparar uma solução de esqualano (1:100) em clorofórmio, contendo 50 mg da amostra por mL.

Solução (2): preparar uma solução de esqualano (1:100) em clorofórmio, contendo 50 mg de ergocalciferol SQR por mL.

Solução (3): preparar uma solução de esqualano (1:100) em clorofórmio, contendo 100 µg de ergosterol por mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de cloreto de acetila a 2% em cloreto de antimônio SR. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*, podendo apresentar uma mancha violeta abaixo da mancha do ergocalciferol. A coloração da mancha violeta é menos intensa que aquela do cromatograma obtido com a solução de ergosterol.

D. Dissolver 5 mg da amostra em 5 mL de clorofórmio e adicionar 0,3 mL de anidrido acético e 0,1 mL de ácido sulfúrico. Agitar vigorosamente. Desenvolve-se coloração vermelho-brilhante que, rapidamente, passa a violeta, em seguida a azul e finalmente a verde.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias redutoras. Dissolver 0,1 g de amostra em álcool etílico e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. Adicionar 0,5 mL de solução de azul de tetrazólio (1:200) em álcool etílico e 0,5 mL de hidróxido de tetrametilamônio a 10% (v/v) em álcool etílico. Deixar a mistura em repouso por cinco minutos e em seguida adicionar 1 mL de ácido acético glacial. Realizar ensaio em branco utilizando 10 mL de álcool etílico. Determinar a absorvância da solução em 525 nm. A absorvância é menor que aquela obtida com uma solução contendo 0,2 g de hidroquinona por mL de álcool etílico, preparada da mesma maneira.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: álcool *n*-amílico e hexano (3:997).

Solução amostra: transferir 10 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 10 mL de tolueno e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ergocalciferol SQR em 10 mL de tolueno e completar o volume com *Fase móvel* de modo a obter solução a 100 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver 1 mg de colecalciferol em 5 mL de *Fase móvel*. Aquecer por 45 minutos em banho-maria a 90 °C, com refluxo, e deixar esfriar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,4 para o pré-colecalciferol, 0,5 para o *trans*-colecalciferol e 1,0 para o colecalciferol. A resolução entre pré-colecalciferol e *trans*-colecalciferol é, no mínimo, 1,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos de colecalciferol é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e a *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{28}H_{44}O$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

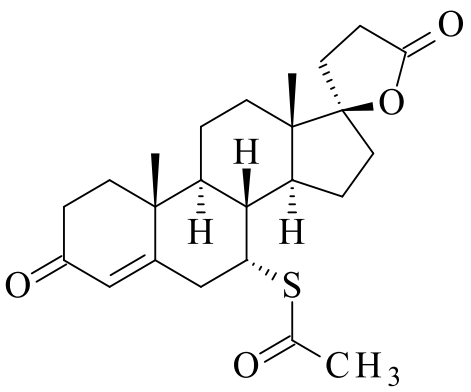
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina.

ESPIRONOLACTONA

Spironolactonum



$C_{24}H_{32}O_4S$; 416,57
espironolactona; 03561
γ-Lactona do ácido (7α,17α)-7-(acetiltio)-17-hidroxi-3-oxopregn-4-eno-21-carboxílico
[*52-01-7*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{24}H_{32}O_4S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, bege claro a castanho-amarelado. Estável ao ar. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico absoluto, pouco solúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: entre -33 e -37, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em clorofórmio.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 198 ºC a 207 ºC, com decomposição. Ocasionalmente, pode apresentar fusão preliminar em cerca de 135 ºC seguida por ressolidificação.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, em solução a 5% (p/v) em clorofórmio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de espironolactona SQR, preparado de maneira idêntica. Caso o espectro da amostra não se apresente idêntico ao do padrão, dissolver, separadamente, a amostra e o padrão em álcool metílico, evaporar até secura e repetir o teste com os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de espironolactona SQR. As absortividades respectivas, calculadas no comprimento de onda de absorvância máxima em torno de 238 nm, não diferem mais que 3%.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e acetato de butila como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em álcool etílico e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução (1)* para 50 mL com álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido sulfúrico/álcool metílico SR, aquecer a placa a 105 °C por 10 minutos e examinar imediatamente. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1),* diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Compostos mercapto. Agitar 2 g da amostra com 30 mL de água e filtrar.Em seguida, adicionar 3 mL de amido SI a 15 mL do filtrado, e titular com iodo 0,005 *M* SV. Fazer ensaio em branco para a correção necessária. É consumido, no máximo, 0,10 mL de iodo 0,005 *M* SV.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra e dissolver em álcool metílico. Completar o volume para 250 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com álcool metílico até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 238 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{24}H_{32}O_4S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (60:40).

Solução amostra: transferir aproximadamente 50 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com uma mistura de acetonitrila e água (50:50). Homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com uma mistura de acetonitrila e água (50:50), obtendo solução a 100 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de espironolactona SQR em mistura de acetonitrila e água (50:50), para obter solução a 500 µg/mL. Diluir, sucessivamente, em mistura de acetonitrila e água (50:50), para obter solução a 100 µg/mL.

Procedimento: Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{24}H_{32}O_4S$ na amostra a partir das respostas obtidas para *a Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

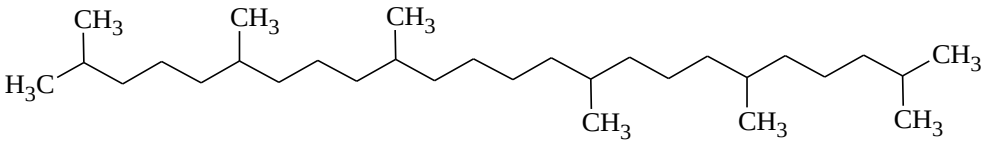
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

ESQUALANO

Squalanum



$C_{30}H_{62}$; 422,81
esqualano; 09701
2,6,10,15,19,23-Hexametiltetracosano
[*111-01-3*]

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido oleoso límpido e incolor.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico. Miscível com óleos.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,807 a 0,810.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,4510 a 1,4525.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, dispersa entre placas de cloreto de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de esqualano SQR, preparado de maneira idêntica..

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 0,2.

Índice de saponificação (5.2.29.8). No máximo, 2,0.

Índice de iodo (5.2.29.10). No máximo, 4,0.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com polidimetilsiloxano, com espessura do filme de 0,25 µm; a temperatura da coluna de 60 °C a 290 °C (60 °C mantida por 3 minutos, aumentada a 290 °C a 6 °C por minuto); temperatura do injetor de 280 °C e temperatura do detector de 300 °C; utilizar nitrogênio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 2 mL/minuto.

Solução (1): preparar solução da amostra a 1,5% (p/v).

Solução (2): preparar solução de esqualano SQR a 1,5% (p/v).

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos secundários obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 3,0% da área total sob os picos obtidos. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e em temperatura entre 8 °C e 15 °C.

ROTULAGEM

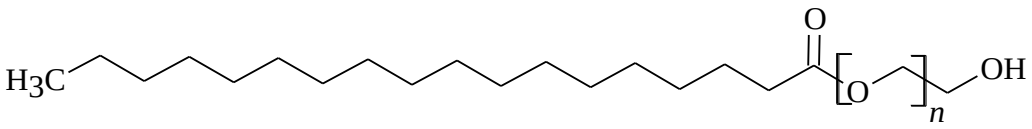
Observar a legislação vigente. Especificar no rótulo a origem (vegetal ou animal).

CATEGORIA

Adjuvante.

ESTEARATO DE MACROGOL

Macrogoli stearas



$C_{18}H_{36}O_2.(C_2H_4O)n$; 05475
α-(1-Oxo-octadecil)-*ω*-hidroxipoli(oxi-1,2-etanodi-il)
[*9004-99-3*]

DESCRIÇÃO

Características físicas. Sólido branco escamoso.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em álcool etílico, em éter etílico e em acetona e insolúvel em óleos minerais e vegetais.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, dispersa dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de estearato de polioxila 40 SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Temperatura de congelamento (5.2.4). No mínimo, 37,0 °C e, no máximo, 47,0 °C.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 2,0.

Índice de saponificação (5.2.29.8). Entre 25 e 35.

Índice de hidroxila (5.2.29.12). Entre 25 e 40.

Polietilenoglicóis livres. Pesar, com exatidão, 6 g de amostra e transferir para funil de separação de 500 mL, contendo 50 mL de acetato de etila. Dissolver completamente e adicionar 50 mL de solução de cloreto de sódio a 29% (p/v), agitar vigorosamente por dois minutos e deixar em repouso por 15 minutos. Se a separação for incompleta, inserir cuidadosamente o funil de separação em banho de vapor, em pequenos intervalos de tempo. Repetir esse procedimento quantas vezes forem necessárias para assegurar a completa separação de fases. Resfriar e separar a fase inferior, aquosa, para um segundo funil de separação de 500 mL, extrair a fase superior novamente com 50 mL de solução de cloreto de sódio a 29% (p/v), repetindo o procedimento descrito anteriormente. Ao segundo funil de separação contendo as fases aquosas adicionar 50 mL de acetato de etila, agitar vigorosamente por dois minutos e deixar em repouso por 15 minutos. Separar a fase inferior, aquosa, para um terceiro funil de separação de 500 mL, e extrair com duas porções de 50 mL de clorofórmio, agitando por dois minutos cada vez. Repetir o procedimento do banho de vapor para obter a completa separação de fases. Transferir as porções de clorofórmio para um béquer de 150 mL e evaporar no banho de vapor até aparente secura. Adicionar ao resíduo 15 mL de clorofórmio e filtrar, coletando o filtrado em um béquer de 150 mL. Lavar o filtro com pequenas porções de clorofórmio, coletando no mesmo béquer

de 150 mL que foi coletado o filtrado e evaporar até que não se perceba mais odor de clorofórmio ou de acetato de etila. Dessecar à temperatura de 60 °C em estufa, sob pressão reduzida, durante uma hora. Arrefecer em dessecador e pesar. A amostra contém no mínimo, 17,0% e, no máximo, 27,0% de polietilenoglicóis livres.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20). No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico, tensoativo.

ESTEARATO DE ZINCO
Zinci stearas

$(C_{17}H_{35}CO_2)_2Zn$; 632,34
estearato de zinco; 10665
[*557-05-1*]

Contém, no mínimo, 10,0% e, no máximo, 12,0% de zinco.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, amorfo, leve, isento de partículas grumosas.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de solidificação **(5.2.29.3)**: no mínimo, 54 °C. Determinar no resíduo obtido no preparo da *Solução (1)*, descrita em *Aspecto da preparação*.

IDENTIFICAÇÃO

Satisfaz às reações do íon zinco **(5.3.1.1)**. Determinar em 1 mL da *Solução (1)*, obtida em *Aspecto da preparação*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir**.** A *Solução (1)* não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC F* **(5.2.12)**.

Solução (1): dissolver 5 g da amostra em 50 mL de éter etílico e 40 mL de ácido nítrico a 7,5% (v/v). Aquecer sob refluxo até completa dissolução e, em seguida, deixar esfriar. Separar a fase aquosa, agitar a fase etérea com 4 mL de água e repetir esse procedimento. Reunir as fases aquosas, lavar com 15 mL de éter etílico e completar o volume para 50 mL com água. Evaporar a fase etérea e levar o resíduo à secura em estufa a 105 °C..

Aspecto da preparação de ácidos graxos. Dissolver 0,5 g do resíduo obtido no preparo da *Solução (1)* em *Aspecto da preparação* em 10 mL de clorofórmio. A preparação não é mais corada que a solução a 12,5% (v/v) de *Solução base de cloreto férrico* **(5.2.12)** em 100 mL de HCl 1%.

Acidez e alcalinidade. Aquecer à ebulição por um minuto, exatamente**,** 1 g de amostra dissolvida em 5 mL de álcool etílico e 20 mL de água. Deixar esfriar e filtrar. No máximo, 0,3 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* é gasto para neutralizar 10 mL do filtrado, utilizando vermelho de fenol SI como indicador. No máximo, 0,3 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* é gasto para neutralizar 10 mL do filtrado, utilizando o mesmo indicador.

Índice de acidez (5.2.29.7). 195 a 210. Determinar em 0,2 g do resíduo obtido no preparo da *Solução (1)* em *Aspecto da preparação*.

Cádmio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno,

lâmpada de cátodo oco de cádmio e selecionar a linha de emissão em 228,8 nm. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Solução amostra: diluir 20 mL da *Solução (1)*, obtida em *Aspecto da preparação* em 50 mL de solução a 3,5% (v/v) de ácido nítrico em água..

Solução padrão: preparar as soluções de referência utilizando uma solução estoque de 1000 ppm de cádmio. As diluições devem ser feitas em ácido nítrico 3,5% (v/v).

Chumbo. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de chumbo e selecionar a linha de emissão em 283,3 nm. No máximo, 0,0025% (25 ppm).

Solução amostra: utilizar a *Solução (1)*, obtida em *Aspecto da preparação*.

Solução padrão: preparar as soluções de referência utilizando uma solução estoque de 1000 ppm de chumbo. As diluições devem ser feitas em ácido nítrico 3,5% (v/v).

Cloretos (5.3.2.1). Com alíquota de 14 mL da *Solução (1)*, obtida em *Aspecto da preparação*, proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*, utilizando 1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* para a *Preparação padrão*. No máximo, 0,025% (250 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Com alíquota de 2 mL da *Solução (1)*, obtida em *Aspecto da preparação*, proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*, utilizando 2,5 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* para a *Preparação padrão*. No máximo, 0,6% (6000 ppm)

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra após dessecar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C, até peso constante. No máximo, 6,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra e dissolver em 50 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*. Ferver essa solução por 10 minutos ou até ocorrer a formação de uma camada límpida de ácidos graxos, adicionando água, se necessário, para manter o volume original da solução. Resfriar e filtrar. Lavar cuidadosamente o filtro e o frasco com água até que a última lavagem não seja ácida ao papel de tornassol. Juntar as águas de lavagem ao filtrado. Proceder conforme *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para *Zinco*. Cada mL de EDTA dissódico 0,05 *M* SV equivale a 3,268 mg de Zn.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

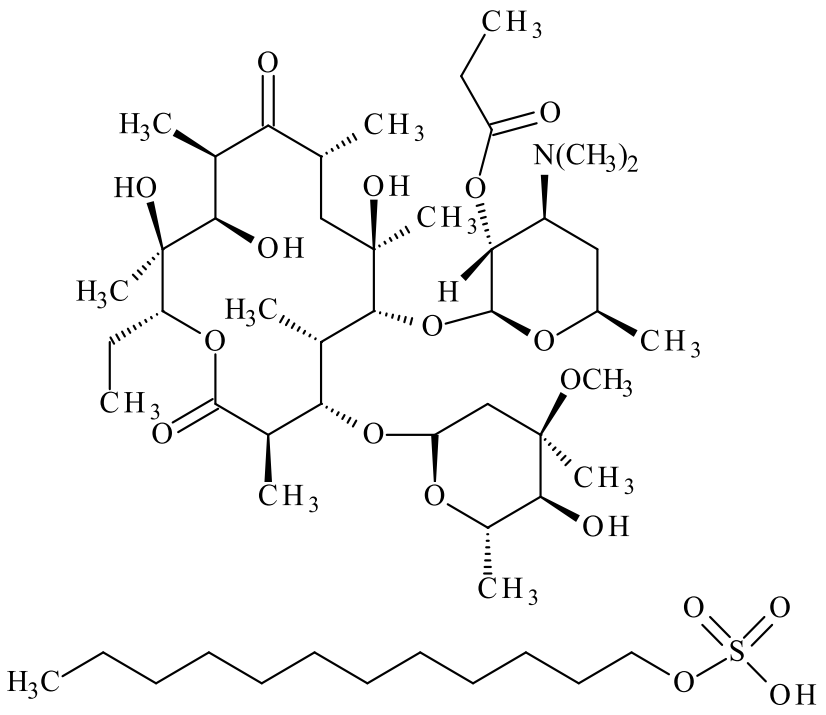
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico.

ESTOLATO DE ERITROMICINA

Erythromycini estolas



$C_{40}H_{71}NO_{14}.C_{12}H_{26}O_4S$; 1056,39
estolato de eritromicina; 03494
Sulfato de dodecila de 2'-propanoato de eritromicina (1:1)
[*3521-62-8*]

Apresenta potência de, no mínimo, 610 UI de estolato de eritromicina ($C_{40}H_{71}NO_{14}.C_{12}H_{26}O_4S$) por miligrama em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e solúvel em álcool etílico. Praticamente insolúvel em ácido clorídrico diluído.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 135 °C a 138 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de estolato de eritromicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3).*

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0. Determinar em suspensão aquosa a 1% (p/v).

Sustâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetato de amônio a 15% (p/v) com pH ajustado para 7,0; álcool etílico e clorofórmio (1:15:85), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 4 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (2): diluir 2,5 mL da *Solução (1)* em 10 mL de acetona.

Solução (3): solução a 1 mg/mL de estolato de eritromicina SQR em acetona.

Solução (4): dissolver 10 mg de estolato de eritromicina SQR e 10 mg de etilsuccinato de eritromicina em 10 mL de acetona.

Solução (5): solução a 80 µg/mL de eritromicina SQR em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com anisaldeído SR e aquecer a 110 °C por cinco minutos. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1),* diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (5)* (2,0%). O teste somente é válido se, no cromatograma obtido com a *Solução (4),* houver duas manchas nitidamente separadas.

Água (5.2.20.1). Utilizar 20 mL de álcool metílico contendo 10% de imidazol no frasco de titulação. No máximo, 4,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo, 0,5%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura número 1 para manutenção do micro-organismo, solução salina estéril para padronização do inóculo, meio de cultura número 11 para camada base e para preparação do inóculo.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra equivalente a 50 mg de eritromicina em 20 mL de álcool metílico. Diluir para 50 mL com *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*. Manter a 60 ºC por três horas. Filtrar. Diluir para obter concentrações de 0,30 µg/mL, 0,60 µg/mL e 1,2 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2).*

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de estolato de eritromicina SQR e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL com auxílio de 20 mL de álcool metílico. Agitar,

completar o volume com *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*. Diluir para obter concentrações de 0,30 µg/mL, 0,60 µg/mL e 1,2 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2).*

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 1,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em UI de estolato de eritromicina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 30 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

ESTOLATO DE ERITROMICINA COMPRIMIDOS

Contém estolato de eritromicina equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$). Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1),** utilizando sílica-gel (0,25 mm), como suporte, e mistura de álcool metílico e clorofórmio (85:15), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 3 μL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. A partir do pó, preparar solução equivalente a 20 mg/mL de eritromicina em álcool metílico.

Solução (2): utilizar estolato de eritromicina SQR de modo a obter solução a 20 mg/mL de eritromicina em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com mistura de álcool etílico, anisaldeído e ácido sulfúrico (90:5:5). Aquecer a placa a 100 °C por 10 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)*, de cor preta a roxa, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, 30 minutos. Utilizar fluido gástrico simulado como meio de desintegração.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). Utilizar 20 mL de álcool metílico contendo 10% de imidazol no frasco de titulação. No máximo, 5,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** e conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros. Preparar *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 0,5 g de eritromicina e transferir para balão volumétrico de 500 mL. Diluir em 200 mL de álcool metílico e agitar mecanicamente por 10 minutos. Adicionar 100 mL de *Tampão fosfato de potássio 0,1 M,*

estéril, pH 8,0 (Solução 2) e agitar mecanicamente por 10 minutos. Completar o volume com mesmo solvente e filtrar.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ESTOLATO DE ERITROMICINA SUSPENSÃO ORAL

Estolato de eritromicina suspensão oral é a mistura de estolato de eritromicina com um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tampões, adoçantes e conservantes. Contém estolato de eritromicina equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$).

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel (0,25 mm) como suporte e mistura de álcool metílico e clorofórmio (85:15), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 3 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume de suspensão oral equivalente a 20 mg de eritromicina para funil de separação. Adicionar 15 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* e misturar. Adicionar 2 g de cloreto de sódio e 25 mL de clorofórmio e agitar por três minutos. Separar a fase clorofórmica passando-a através de pequena quantidade de sulfato de sódio anidro, previamente lavado com clorofórmio. Coletar o extrato clorofórmico. Lavar o sulfato de sódio com mais 5 mL de clorofórmio. Evaporar a fase orgânica até secura em evaporador rotatório. Dissolver o resíduo em 1 mL de álcool metílico.

Solução (2): transferir quantidade de estolato de eritromicina SQR equivalente a 20 mg de eritromicina para um funil de separação e proceder à extração conforme descrito para *Solução (1).*

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e nebulizar com mistura de álcool etílico, anisaldeído e ácido sulfúrico (90:5:5). Aquecer a placa a 100 °C por 10 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1),* de cor preta a roxa, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,5 a 6,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, utilizando cilindros.

Micro-organismo: Kocuria rhizophila ATCC 9341.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de eritromicina SQR em álcool metílico de modo a obter solução a 10 mg/mL. Diluir quantitativamente com *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)* até concentração de 1 mg/mL. Diluir sucessivamente com o *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)* de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada à curva padrão.

Solução amostra: transferir volume da suspensão oral, isenta de bolhas, equivalente a 0,25 g de eritromicina, para balão volumétrico de 250 mL. Adicionar 100 mL de álcool metílico e agitar por 10 minutos. Completar o volume com a *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)* e aquecer até 60 °C por três horas, esfriar e filtrar. Diluir sucessivamente com *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)* de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada à curva padrão.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio base número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de meio semeado número 11 e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade, em mg de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$), na suspensão oral a partir da potência do padrão e das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

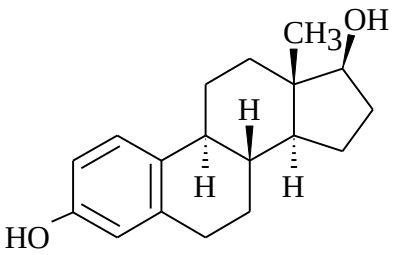
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ESTRADIOL

Estradiolum



$C_{18}H_{24}O_2$; 272,38
estradiol; 03595
(17β)-Estra-1,3,5(10)-trieno-3,17-diol
[*50-28-2*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{18}H_{24}O_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco a branco-amarelado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico, solúvel em dioxano, ligeiramente solúvel em óleo vegetal. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 173 °C a 179 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +76 a +83. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de estradiol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,005% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 280 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de estradiol SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 3,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 205 nm; coluna de 300 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 mL/minuto.

Fase móvel: acetonitrila e água (55:45).

Solução de padrão interno: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de etilparabeno em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,60 mg/mL.

Solução amostra: transferir 100 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com álcool metílico. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 5 mL da *Solução de padrão interno*, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de estradiol SQR e estrona SQR em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,4 mg/mL e 0,24 mg/mL, respectivamente. Transferir 10 mL dessa solução e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 100 mL de álcool metílico e completar o volume com água, obtendo solução a 20 µg/mL de estradiol SQR.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção são cerca de 0,7 para o etilparabeno, 1,0 para o estradiol e 1,3 para estrona. A resolução entre estrona e estradiol é, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{18}H_{24}O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

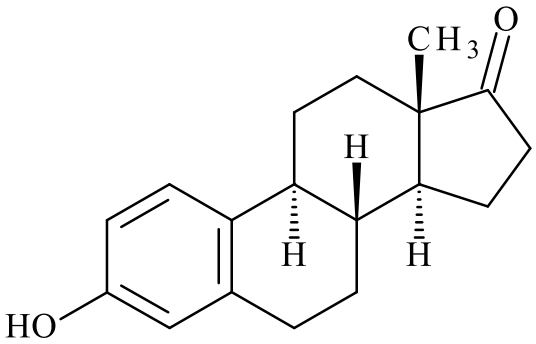
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hormônio.

ESTRONA
Estronum



$C_{18}H_{22}O_2$; 270,37
estrona; 03630
3-Hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona
[*53-16-7*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{18}H_{22}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco a branco-amarelado ou pequenos cristais brancos a branco-amarelados.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico, em álcool metílico e em óleos vegetais. Pouco solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos fixos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 258 ºC a 262 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +158 a +165, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de estrona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,005% (p/v) em álcool etílico aquecido em banho-maria e resfriado à temperatura ambiente, há máximos idênticos aos observados no espectro de solução similar de estrona SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa, a 105 ºC, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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; 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 1 mL/minuto.

Fase móvel: acetonitrila e fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* (50:50).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 40 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de estrona SQR em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 40 μg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 1500 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{18}H_{22}O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

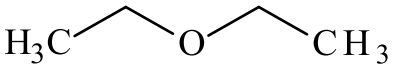
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hormônio.

ÉTER ETÍLICO
Aether ethylicus



$C_4H_{10}O$; 74,12
éter etílico; 03663
1,1'-Oxibisetano
[*60-29-7*]

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, volátil, inflamável.

Solubilidade. Solúvel em água, miscível com álcool etílico, com cloreto de metileno e com óleos graxos.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5).** 0,714 a 0,716.

Faixa de destilação **(5.2.3).** ***Nota:*** *Não destilar se a amostra não satisfizer ao ensaio de peróxidos*. A amostra destila completamente entre 34 °C e 35 °C. Realizar o ensaio utilizando dispositivo de aquecimento apropriado. Proceder com precaução, evitar aquecer o balão acima do nível do líquido.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz ao ensaio de *Densidade relativa* **(5.2.5)**.

B. Satisfaz ao ensaio de *Determinação da faixa de destilação* **(5.2.3)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Num frasco de tampa esmerilhada, introduzir 10 mL de álcool etílico, 2 mL de água destilada, 0,5 mL de fenolftaleína SI e adicionar solução de hidróxido de sódio 0,02 *M* até obtenção de coloração rósea persistente após agitação durante 30 segundos. Adicionar, com exatidão, 25 mL da amostra, fechar e agitar cuidadosamente. Adicionar solução de hidróxido de sódio 0,02 *M* até coloração rósea persistente após agitação durante 30 segundos. Não devem ser gastos mais do que 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* para neutralizar o éter etílico.

Peróxidos. Numa proveta com tampa esmerilhada de 25 mL, introduzir 10 mL da amostra e 1 mL de uma solução recentemente preparada de iodeto de potássio 10% (p/v) e agitar. A mistura deverá ser protegida da luz durante uma hora. Os líquidos não devem apresentar coloração.

Resíduo não volátil. Evaporar 50 mL da amostra, espontaneamente, em cápsula de porcelana previamente tarada. Dessecar o resíduo em estufa a 105 °C, durante uma hora, deixar arrefecer e pesar. O peso do resíduo não deve exceder a 1 mg (0,003%).

Aldeídos. A um funil de separação, transferir 20 mL da amostra e adicionar 7 mL da mistura de 1 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR e 17 mL de solução saturada de cloreto de sódio. Fechar e agitar vigorosamente por 10 segundos. Deixar repousar por um minuto. A camada aquosa não deve apresentar turvação.

Odor estranho. Sobre um disco de papel de filtro de 80 mm de diâmetro, aplicar 5 mL da amostra e deixá-la evaporar espontaneamente. Após a volatilização da amostra, não deve ser observado odor estranho ao éter etílico.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e à temperatura entre 8 °C e 15 °C.

ROTULAGEM

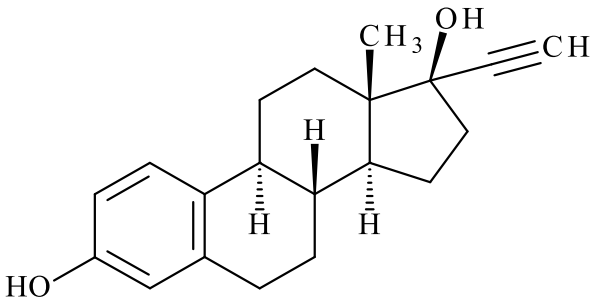
O rótulo deverá indicar o nome e a concentração do antioxidante não volátil eventualmente utilizado.

CATEGORIA

Solvente.

ETINILESTRADIOL

Ethinylestradiolum



$C_{20}H_{24}O_2$; 296,40
etinilestradiol; 03699
(17α)-19-Norpregna-1,3,5(10)-trien-20-ino-3,17-diol
[*57-63-6*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{20}H_{24}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou levemente amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em dioxano e em álcool etílico. Solúvel em soluções alcalinas diluídas.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 180 °C a 186 °C. Apresenta forma polimorfa com faixa de fusão de 142 °C a 146 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: –28,0 a –29,5 , em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 0,4% (p/v) em piridina. A piridina deve estar incolor e proceder de um frasco recentemente aberto.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de etinilestradiol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,005% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 281 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de etinilestradiol SQR.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 2% (p/v) em álcool etílico é límpida **(5.2.25)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool etílico e tolueno (10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Diluente: mistura de álcool metílico e clorofórmio .

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em mistura de álcool metílico e clorofórmio (10:90) e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução (1)* para 10 mL com uma mistura de álcool metílico e clorofórmio (10:90).

Solução (3): dissolver 25 mg de etinilestradiol SQR em mistura de álcool metílico e clorofórmio (10:90) e completar para 25 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver 10 mg de estrona SQR em mistura de álcool metílico e clorofórmio (10:90) e completar para 10 mL com o mesmo solvente. Diluir 2 mL desta solução para 10 mL com o o mesmo solvente..

Solução (5): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 5 mL com mistura de álcool metílico e clorofórmio (10:90)..

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e aquecer a 110 °C por 10 minutos. Nebulizar a placa quente com ácido sulfúrico metanólico SR. Aquecer a placa novamente a 110 °C por 10 minutos e examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Qualquer mancha correspondente à estrona no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (4)* (1,0%). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal e da mancha correspondente à estrona, não é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (5)* (1,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra, em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra. Dissolver em 40 mL de tetraidrofurano e adicionar 5 mL de nitrato de prata a 10% (p/v). Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 29,640 mg de $C_{20}H_{24}O_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra, dissolver em álcool etílico e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir com álcool etílico até concentração de 0,01% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 281 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{20}H_{24}O_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

C. 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 150 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 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (1:1).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, dissolver e completar o volume com *Fase móvel*. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 50 mL, diluir e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: dissolver, quantitativamente, cerca de 10 mg de etinilestradiol SQR em *Fase móvel* e diluir para 50 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{24}O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

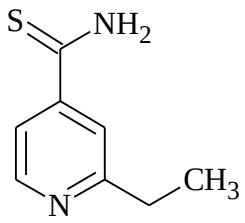
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Contraceptivo.

ETIONAMIDA
Ethionamidum



$C_8H_{10}N_2S$; 166,24
etionamida; 03704
2-Etil-4-piridinacarbotioamida
[*536-33-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_{10}N_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino amarelo ou pequenos cristais amarelos.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico, pouco solúvel em propilenoglicol.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 158 ºC a 164 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, dessecada por 18 horas sobre sílica-gel e sob pressão reduzida, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de etionamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 350 nm, da solução amostra, obtida no método **B.** do *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda da solução similar de etionamida SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 7,0. Determinar em suspensão aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio e álcool metílico (90:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 20 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (2): solução a 0,1 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (3): solução a 0,04 mg/mL da amostra em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar, examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%), e não mais que uma mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,2%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,25 g da amostra em 50 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 16,624 mg de $C_8H_{10}N_2S$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra e dissolver em álcool metílico. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão de etionamida SQR na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_8H_{10}N_2S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, em local fresco.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano (tuberculostático).

ETIONAMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_8H_{10}N_2S$. Os comprimidos devem ser revestidos (revestimento açucarado).

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,125 g de etionamida com 25 mL de éter etílico por dois ou três minutos. Filtrar e evaporar o filtrado à temperatura ambiente. Secar o resíduo sobre sílica-gel, sob pressão reduzida. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da etionamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 350 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 290 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 1 g de etionamida com 50 mL de álcool metílico e filtrar utilizando papel de filtração lenta. Evaporar o filtrado em banho de vapor até secura. O resíduo obtido funde entre 155 ºC e 164 ºC.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Utilizar ácido clorídrico 0,1 *M* como meio de desintegração. No máximo, 30 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL contendo 60 mL de álcool metílico e aguardar a desintegração total do comprimido. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar, desprezando os primeiros 20 mL do filtrado. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando álcool metílico como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm **(5.2.14)**, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{10}N_2S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 274 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{10}N_2S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a de solução de etionamida SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_{10}N_2S$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de etionamida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 80 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar, desprezando os primeiros 20 mL do filtrado. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 290 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{10}N_2S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

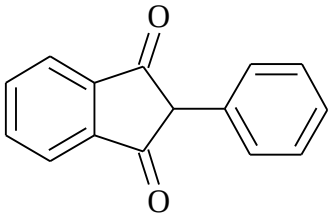
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FENINDIONA
Phenindionum



$C_{15}H_{10}O_2$; 222,24
fenindiona; 03938
2-Fenil-1*H*-indeno-1,3(2*H*)-diona
[*83-12-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{15}H_{10}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, ou cristais sedosos, brancos ou levemente amarelados.

Solubilidade. Insolúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 148 ºC a 151 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fenindiona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 0,1 g da amostra em 30 mL de álcool etílico, com auxílio de aquecimento, se necessário. Resfriar, transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente. A partir desta solução e, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M*, diluir até obter solução a 0,0004% (p/v) da amostra. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** dessa solução, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximos e mínimos nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades daqueles observados com a fenindiona SQR, preparada de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte, e butil-hidroxitolueno a 0,02% (p/v) em mistura de acetato de etila e ácido acético glacial (20:4) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 10 mg/mL em cloreto de metileno.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 50 mL com cloreto de metileno.

Solução (3): diluir 2,5 mL da *Solução (2)* para 10 mL com cloreto de metileno.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (2)* (2,0%). No máximo, uma mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra, dissolver em hidróxido de sódio 0,1 *M* e diluir para 250 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em hidróxido de sódio 0,1 *M* até concentração de 0,0004% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 278 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{15}H_{10}O_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

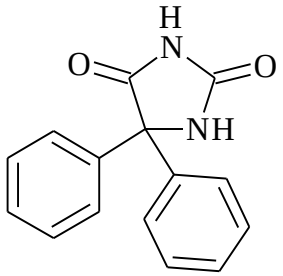
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

FENITOÍNA
Phenytoinum



$C_{15}H_{12}N_2O_2$; 252,27
fenitoína; 03953
5,5-Difenil-2,4-imidazolidinadiona
[*57-41-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{12}N_2O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico quente, pouco solúvel em álcool etílico frio. Dissolve-se em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 295 ºC a 298 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fenitoína SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra. Adicionar 45 mL de água e aquecer à ebulição durante dois minutos. Resfriar e filtrar. Lavar o filtro com água isenta de dióxido de carbono. Reunir as águas de lavagem em balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água isenta de dióxido de carbono. Homogeneizar. Pipetar 10 mL da solução obtida para erlenmeyer. Adicionar 0,15 mL de vermelho de metila SI. Titular com ácido clorídrico 0,01 *M* até coloração vermelha. No máximo, 0,5 mL do titulante é gasto para a viragem do indicador. Pipetar 10 mL da solução inicial para outro erlenmeyer. Adicionar 0,15 mL de azul de bromotimol SI. Titular com hidróxido de sódio 0,01 *M* até coloração azul. No máximo, 0,5 mL do titulante é gasto para a viragem do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento.* Preparar as soluções como descrito a seguir, no momento do uso.

Solução (1): preparar uma solução a 1 mg/mL da amostra em *Diluente*. Levar a banho de ultrassom, se necessário.

Solução (2): preparar uma solução a 1 µg/mL de fenitoína SQR, 5 µg/mL de impureza A (2,2-difenilglicina), 9 µg/mL de impureza B (ácido 2,2-difenil-2-ureidoacético) e 1 µg/mL de benzofenona em *Diluente*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*. A relação sinal-ruído em relação ao pico da fenitoína é superior a 10 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 5,0%. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,14 para impureza A, 0,53 para impureza B, 1,0 para a fenitoína e 2,11 para benzofenona.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (2)* e da *Solução(1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. As áreas sob os picos relativos às impurezas A, B e benzofenona, obtidos com a *Solução (2)*, não são maiores que as áreas sob os respectivos picos obtidos com a *Solução (1)* (impureza A 0,5%, impureza B 0,9% e benzofenona 0,1%). A soma das áreas sob todos os outros picos obtidos com a *Solução (2)*, exceto os picos dos solventes, não é maior que a área sob o pico da fenitoína da *Solução (1)* (0,1%). Não considerar os picos com área inferior a 0,5 vezes àquela apresentada pelo pico da fenitoína obtido com a *Solução (2)* (0,05%). A soma de todas as impurezas, exceto a benzofenona, é, no máximo, 0,9%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 2 g da amostra. Utilizar 2 mL da *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 220 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Eluente A: solução de fosfato de potássio monobásico a 0,68 % (p/v). Ajustar o pH para 2,5 com ácido fosfórico.

Eluente B: mistura de álcool metílico e acetonitrila (60:40).

Fase móvel: Adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 23	60	40	isocrática
23 - 38	60 → 42	40 → 58	gradiente linear
38 - 45	42 → 30	58 → 70	gradiente linear
45 - 50	30	70	isocrática
50 - 51	30 → 60	70 → 40	gradiente linear
51 - 55	60	40	isocrática

Diluente: mistura de *Eluente B* e água (1:1).

Solução amostra: preparar solução da amostra a 0,2 mg/mL em *Diluente*. Levar a banho de ultrassom, se necessário.

Solução padrão: preparar solução a 0,2 mg/mL de fenitoína SQR em *Diluente*. Levar a banho de ultrassom, se necessário.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* O fator de cauda para o pico da fenitoína é, no máximo, 1,5 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 0,73%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticonvulsivante.

FENITOÍNA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{12}N_2O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Testes de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão tris 0,05 *M* pH 9,0, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 120 minutos.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Doseamento*. Imediatamente após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar, descartando os primeiros mililitros. Pipetar 10 mL do filtrado e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 75 mg de fenitoína SQR, transferir para balão volumétrico de 25 mL, dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente. Pipetar 1 mL dessa solução e transferir para balão volumétrico de 50 mL, completando o volume com o *Meio de dissolução*. Pipetar 10 mL da solução anterior e diluir para 25 mL com *Fase móvel*.

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ se dissolvem em 120 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 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 de água, álcool metílico, acetonitrila, trietilamina a 1% (v/v) e ácido acético (500:270:230:5:1).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de fenitoína para balão volumétrico de 100 mL, adicionar cerca de 70 mL da *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de fenitoína SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver em, no máximo, 5 mL de álcool metílico com auxílio de banho de ultrassom. Completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 6500 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FENITOÍNA SÓDICA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2*).

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 10,0 a 12,3.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de Benzofenona e Benzil. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de dioxano e hexano (30:75), como fase móvel. Antes do teste, lavar a placa com a fase móvel e deixar secar ao ar. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): diluir volume da solução injetável em álcool metílico de modo a obter solução de fenitoína sódica a 20 mg/mL.

Solução (2): solução a 20 mg/mL de fenitoína sódica SQR em álcool metílico.

Solução (3): solução a 0,1 mg/mL de benzofenona em álcool etílico.

Solução (4): solução a 0,1 mg/mL de benzil em álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha correspondente à benzofenona ou ao benzil obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que as manchas obtidas nos cromatogramas com a *Solução (3)* e a *Solução (4)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,35 UE/mg de fenitoína sódica.

DOSEAMENTO

Proceder conforme *descrito em Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 de álcool metílico e água (55:45).

Solução amostra: transferir volume da solução injetável equivalente a 0,25 g de fenitoína sódica para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fenitoína sódica SQR na *Fase móvel* e diluir de modo a obter solução a 0,25 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ na solução injetável a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

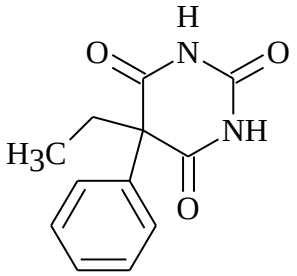
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz, em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FENOBARBITAL

Phenobarbitalum



$C_{12}H_{12}N_2O_3$; 232,24
fenobarbital; 03960
5-Etil-5-fenil-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-pirimidinatriona
[*50-06-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{12}N_2O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico. Solúvel em carbonatos e hidróxidos diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 174 °C a 178 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fenobarbital SQR, preparado de maneira idêntica.

B A relação entre os tempos de retenção do pico principal e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde à relação entre os tempos de retenção do pico principal e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 10% (p/v) em mistura de hidróxido de sódio 2 *M* e água (2:3) é límpida **(5.2.25)**.

Acidez. Ebulir, durante dois minutos, 1 g da amostra em 50 mL de água. Resfriar e filtrar. Adicionar, a 10 mL do filtrado, 0,15 mL de vermelho de metila SI. A solução torna-se amarelo-alaranjada. Titular

com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV é necessário para produzir coloração amarela nítida.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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.

Tampão acetato pH 4,5: dissolver cerca de 6,6 g de acetato de sódio tri-hidratado e 3 mL de ácido acético glacial em 1000 mL de água e ajustar, se necessário, com ácido acético glacial para pH de 4,5 ± 0,1.

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato pH 4,5* e álcool metílico (60:40).

Solução (1): dissolver 0,125 g da amostra em 5 mL de álcool metílico e diluir a 25 mL com a *Fase móvel*.

Solução (2): misturar 1 mL da *Solução (1)*, 20 mL de álcool metílico e diluir a 100 mL com *Fase móvel*. Misturar 1,0 mL dessa solução com 2 mL de álcool metílico e diluir a 10 mL com *Fase móvel*.

Solução (3): dissolver 5 mg de impureza A ((5RS)-5-etil-2,6-diimino-5-feniltetrahidropirimidina-4-(1*H*)-ona), 5 mg de impureza B ((5RS)-5-etil-6-imino-5-fenildihidropirimidine-2,4(1*H*,3*H*)-diona) em 2 mL de álcool metílico e diluir para 10 mL com *Fase móvel*. Misturar 1 mL dessa solução com 20 mL de álcool metílico e diluir para 100 mL com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,2 para a impureza A e 0,3 para a impureza B e 1,0 para o fenobarbital. A resolução entre os picos das impurezas A e B é, no mínimo, 1,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente à impureza A não deve ser maior que 1,5 vezes a área sob o pico correspondente à mesma impureza obtido com a *(3)* (0,15%). A área sob o pico correspondente à impureza B não deve ser maior que a área sob o pico correspondente à mesma impureza obtido com a *Solução (3)* (0,1%). A área sob os picos de outras impurezas isoladamente não deve ser maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%) e a soma das outras impurezas é, no máximo, 0,2%. Desprezar picos que correspondam à metade da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Perda por dessecação. (5.2.9.1). Dessecar em estufa, a 105 °C, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g de amostra, transferir para erlenmeyer de 125 mL e dissolver em 50 mL de álcool etílico, previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando seis gotas de timolftaleína SI. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 23,224 mg de $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de amostra, transferir para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em 5 mL de álcool etílico e completar o volume com tampão borato pH 9,6. Diluir, sucessivamente, até concentração de 0,001% (p/v), utilizando o mesmo solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir a absorvância das soluções resultantes em 240 nm, utilizando tampão borato pH 9,6 para o ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ na amostra a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,2 mL/minuto.

Tampão acetato pH 4,5: dissolver cerca de 6,6 g de acetato de sódio tri-hidratado e 3 mL de ácido acético glacial em 1000 mL de água e ajustar, se necessário, com ácido acético glacial para pH de 4,5 ± 0,1.

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato pH 4,5* e álcool metílico (56:44).

Diluente: mistura de *Tampão acetato pH 4,5* e álcool metílico (1:2)

Solução de padrão interno: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cafeína SQR em *Diluente* de modo a obter solução a 0,6 mg/mL.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 60 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Acrescentar 10 mL de *Solução de padrão interno* e cerca de 60 mL de *Diluente*. Levar a banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com *Diluente*.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 60 mg de fenobarbital SQR para balão volumétrico de 100 mL. Acrescentar 10 mL de *Solução de padrão interno* e cerca de 60 mL de *Diluente.* Levar a banho de ultrassom durante 15 minutos e completar o volume com *Diluente*, de modo a obter solução contendo 0,6 mg/mL de fenobarbital.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,4 para a cafeína e 1,0 para o fenobarbital. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. A resolução entre fenobarbital e cafeína é, no mínimo, 1,2. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao fenobarbital e à cafeína. Calcular o teor de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ na amostra a partir das respostas obtidas para a relação fenobarbital/cafeína com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticonvulsivante, hipnótico, sedativo.

FENOBARBITAL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 60 mg de fenobarbital para béquer, adicionar 50 mL de clorofórmio, homogeneizar e filtrar. Evaporar até secura. Secar o resíduo em estufa a 105 °C por duas horas. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Fenobarbital*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14),** na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. A relação entre os tempos de retenção do pico principal e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde à relação entre os tempos de retenção do pico principal e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução padrão*.

D. O resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* funde (**5.2.2**) entre 174 °C e 178 °C.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL contendo 5 mL de água e aguardar a desintegração total do comprimido. Acrescentar 5 mL de álcool etílico e 60 mL de tampão borato pH 9,6. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos, completar o volume com o tampão. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* a partir de "Homogeneizar e filtrar".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir com tampão borato pH 9,6 até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 240 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de fenobarbital SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada em tampão borato pH 9,6.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Por *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de fenobarbital para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em 5 mL de álcool etílico e acrescentar 35 mL de tampão borato pH 9,6. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e completar o volume com o tampão. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir a absorvância das soluções resultantes no comprimento de onda de 240 nm, utilizando tampão borato pH 9,6 para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento* da monografia de *Fenobarbital*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 60 mg de fenobarbital para balão volumétrico de 100 mL, acrescentar 10 mL de *Solução de padrão interno* e 60 mL de *Diluente*. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o *Diluente*, homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao fenobarbital e à cafeína. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a relação fenobarbital/cafeína, com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FENOBARBITAL SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$. Contém agentes estabilizantes e alcalinizantes apropriados.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume da solução oral, equivalente a 0,4 g de fenobarbital, para funil de separação de 125 mL contendo 20 mL de água, adicionar 5 mL de hidróxido de sódio *M*, homogeneizar e extrair com duas porções de 10 mL de clorofórmio, descartando a camada orgânica. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico 3 *M* e extrair com duas porções de 25 mL de clorofórmio, filtrar, recolhendo os extratos orgânicos em béquer. Evaporar até secura. Secar o resíduo em estufa a 105 °C por duas horas. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Fenobarbital*.

B. A relação entre os tempos de retenção do pico principal e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde à relação entre os tempos de retenção do pico principal e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução padrão*.

C. O resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* funde **(5.2.2)** entre 174 °C e 178 °C.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 9,2 a 10,2.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **C.** de *Doseamento* da monografia de *Fenobarbital*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir volume da solução oral, equivalente a 0,6 g de fenobarbital, para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluente.* Transferir 10 mL para balão volumétrico de 50 mL, acrescentar 4 mL de *Solução de padrão interno* e completar o volume com o *Diluente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao fenobarbital e à cafeína. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ na solução oral a partir das respostas obtidas para a relação fenobarbital/cafeína, com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

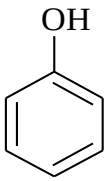
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FENOL
Phenolum



C_6H_6O; 94,11
fenol; 03968
Fenol
[*108-95-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de C_6H_6O, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais aciculares incolores ou massa cristalina branca, corrosivo, irritante para mucosas e pele, deliquescente. Escurece quando exposto ao ar e à luz.

Solubilidade. Solúvel em água, muito solúvel em álcool etílico, glicerol e óleos fixos e voláteis.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de congelamento **(5.2.4)**: no mínimo, 39 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 5 mL de uma solução aquosa da amostra a 2% (p/v), adicionar uma gota de solução aquosa de cloreto férrico a 5% (p/v). Desenvolve-se coloração violeta. Adicionar 10 mL de álcool etílico a 90% (v/v). A coloração se torna amarela.

B. Adicionar água de bromo SR a uma solução aquosa da amostra a 1% (p/v). Produz-se um precipitado branco que se dissolve imediatamente, mas que se torna permanente após adição de excesso de reagente.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação de 1 g da amostra em 15 mL de água é límpida **(5.2.25)**.

Acidez. A 5 mL de uma solução de 1 g da amostra em 15 mL de água, adicionar uma gota de alaranjado de metila SI. Produz-se coloração amarela.

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

Resíduo por evaporação. Pesar, com exatidão, cerca de 5 g da amostra, evaporar em banho-maria e secar a 105 ºC por uma hora. A massa do resíduo é, no máximo, 2,5 mg (0,05%).

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra, dissolver em água e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 25 mL da solução para um erlenmeyer com tampa e adicionar 50 mL de bromo 0,05 *M* SV e 5 mL de ácido clorídrico. Tampar, agitar ocasionalmente durante 20 minutos e deixar ao abrigo da luz por 15 minutos. Adicionar 5 mL de solução de iodeto de potássio a 20% (p/v) e agitar suavemente. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV. Adicionar 3 mL de solução de amido SI e 10 mL de clorofórmio quando a coloração da solução estiver levemente amarelada. Continuar a titulação com agitação vigorosa até o desaparecimento da cor azul. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de bromo 0,05 *M* SV equivale a 1,569 mg de C_6H_6O.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz.

ROTULAGEM

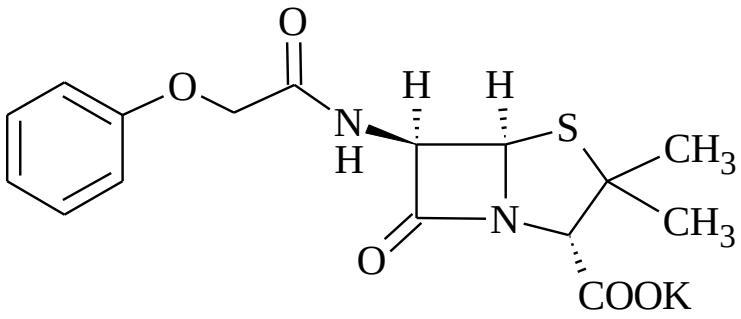
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Antisséptico, conservante e antipruriginoso.

FENOXIMETILPENICILINA POTÁSSICA

Phenoxymethylpenicillinum kalicum



$C_{16}H_{17}KN_2O_5S$; 388,48
fenoximetilpenicilina potássica; 03996
Sal de potássio do ácido (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenoxiacetil)amino]-4-tia-1-azabiciclo [3.2.0]heptano-2-carboxílico (1:1)
[*132-98-9*]

Apresenta teor de, no mínimo, 1380 UI e, no máximo, 1610 UI de fenoximetilpenicilina ($C_{16}H_{18}N_2O_5S$) por miligrama, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Muito solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +220 a +235, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fenoximetilpenicilina potássica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

C. Satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 7,5. Determinar em solução aquosa a 3% (p/v).

Limite de ácido fenoxiacético. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantido à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Tampão fosfato pH 6,6: transferir 250 mL de fosfato de potássio monobásico 0,2 *M* e 82 mL de hidróxido de sódio 0,2 *M* para balão volumétrico de 1000 mL. Completar volume com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido acético glacial (65:35:1). Fazer os ajustes necessários.

Solução (1): solução de ácido fenoxiacético a 0,1 mg/mL em *Tampão fosfato pH 6,6*.

Solução (2): solução da amostra a 20 mg/mL em *Tampão fosfato pH 6,6*. Utilizar a solução no mesmo dia.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução (1)*. O fator de cauda é, no máximo, 1,5 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. No máximo, 0,5% de ácido fenoxiacético.

Limite de 4-hidroxifenoximetilpenicilina. Utilizar o cromatograma obtido no *Doseamento* e calcular a porcentagem de 4-hidroxifenoximetilpeniclina na amostra empregando a fórmula: *100rh/rs*, onde *rh* é a área sob o pico de 4-hidroxifenoximetilpenicilina e *rs* é a soma das áreas sob os picos de 4-hidroxifenoximetilpenicilina e fenoximetilpenicilina. No máximo, 5,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C. No máximo, 1,5%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantido à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido acético glacial (650:350:5,75).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Fase móvel* para obter solução a 2,5 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fenoximetilpenicilina potássica SQR em *Fase móvel* para obter solução a 2,5 mg/mL.

Solução de resolução: preparar solução em *Fase móvel* contendo aproximadamente 2,5 mg de benzilpenicilina potássica e 2,5 mg de fenoximetilpenicilina por mililitro.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,8 para benzilpenicilina e 1,0 para fenoximetilpenicilina. A resolução entre os picos de fenoximetilpenicilina e benzilpenicilina é, no mínimo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob o maior pico de fenoximetilpenicilina e de qualquer pico com tempo de retenção relativo ao pico principal de fenoximetilpenicilina de aproximadamente 0,4. Calcular o teor em UI de fenoximetilpenicilina ($C_{16}H_{18}N_2O_5S$) por miligrama da amostra a partir do teor do padrão e das respostas obtidas para a soma das áreas sob os picos obtidos com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: Staphylococcus aureus ATCC 6538P.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo e preparo do inóculo; meio de cultura número 2, para a camada base.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* para obter solução a 100 UI/mL. Diluir para obter as concentrações 0,2 UI/mL, 0,4 UI/mL e 0,8 UI/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* como diluente.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fenoximetilpenicilina potássica em *Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* para obter solução a 100 UI/mL. Diluir para obter as concentrações 0,2 UI/mL, 0,4 UI/mL e 0,8 UI/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* como diluente.

Procedimento: adicionar 21 mL de meio de cultura número 2 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 4 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em UI de fenoximetilpenicilina por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos e protegidos da luz.

ROTULAGEM

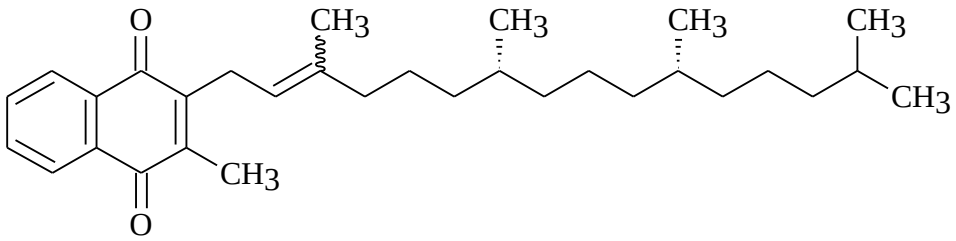
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

FITOMENADIONA

Phytomenadionum



$C_{31}H_{46}O_2$; 450,70
fitomenadiona; 04060
2-Metil-3-[(2*E*,7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-il]-1,4-naftalenodiona
[*84-80-0*]

Fitomenadiona é uma mistura dos isômeros *E* e *Z* que contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{31}H_{46}O_2$. Contém, no máximo, 21,0% do isômero *Z*.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido amarelo a âmbar, muito viscoso, oleoso. É estável ao ar, mas decompõe-se pela exposição à luz.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico absoluto e óleos vegetais, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,523 a 1,526.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do filme fino da amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fitomenadiona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em *n*-hexano, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução de fitomenadiona SQR, preparada de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. A solução a 5% (v/v) em álcool etílico absoluto é neutra ao papel tornassol.

Menadiona. Misturar cerca de 20 mg da amostra com 0,5 mL de mistura de volumes iguais de amônia SR e álcool metílico. Adicionar uma gota de cianoacetato de etila e agitar levemente. Não se desenvolve coloração púrpura ou azul.

Limite de (*Z*)-fitomenadiona. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular o teor de (*Z*)-fitomenadiona na amostra a partir da fórmula:

$$100 \times a_z / (a_z + a_e)$$

em que

a_z = área sob o pico de (*Z*)-fitomenadiona obtida com a *Solução amostra*;
a_e = área sob o pico de (*E*)-fitomenadiona obtida com a *Solução amostra*.

No máximo, 21,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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)**. Proteger as soluções da exposição à luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica (5 µm), mantida à 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de *n*-hexano e álcool *n*-amílico (2000:1,5).

Solução de padrão interno: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de benzoato de colesterila em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 2,5 mg/mL.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 60 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL e dissolver em 20 mL de *Fase móvel*. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 4 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução obtida e 7 mL da *Solução padrão interno* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 60 mg de fitomenadiona SQR para balão volumétrico de 50 mL e dissolver em 20 mL de *Fase móvel*. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 4 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL da solução obtida e 7 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para benzoato de colesterila, 0,9 para (*Z*)-fitomenadiona e 1,0 para (*E*)- fitomenadiona. A resolução entre (*E*)-fitomenadiona e (*Z*)-fitomenadiona é, no mínimo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{31}H_{46}O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas para a relação (área de (*Z*)-fitomenadiona + área de (*E*)-fitomenadiona) / área de benzoato de colesterol, com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

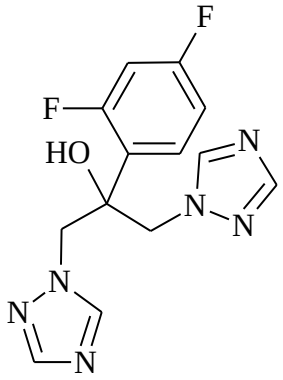
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hemorrágico.

FLUCONAZOL
Fluconazolum



$C_{13}H_{12}F_2N_6O$; 306,27
fluconazol; 04109
α-(2,4-Difluorfenil)-*α*-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-etanol
[*86386-73-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico, solúvel em álcool etílico, ligeiramente solúvel em álcool isopropílico. Solúvel em ácido clorídrico *M* e em hidróxido de sódio *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 138 °C a 140 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fluconazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,02% (p/v) da amostra em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximo em 261 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de fluconazol SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 5% (p/v) em álcool metílico é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 260 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 40 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e solução a 0,63 g/L de formato de amônio (14:86).

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de amostra em *Fase móvel*. Levar a banho de ultrassom, se necessário, e diluir adequadamente de modo a obter solução a 10 mg/mL.

Solução (2): diluir 5 mL da *Solução (1)* para 100 mL usando *Fase móvel*. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL usando *Fase móvel*.

Solução (3): dissolver 5 mg de fluconazol para identificação de pico SQR (contendo impureza A) em *Fase móvel*. Levar a banho de ultrassom, se necessário, e diluir para 10 mL usando *Fase móvel*.

Solução *(4)*: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fluconazol impureza B SQR em *Fase móvel*. Levar a banho de ultrassom, se necessário, e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Solução *(5)*: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fluconazol impureza C SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Misturar 1 mL dessa solução com 1 mL da *Solução (1)* e diluir para 10 mL com *Fase móvel*.

Injetar replicatas da *Solução (5)*. A resolução entre os picos da impureza C e do fluconazol é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)*, *Solução (2)*, *Solução (3)*, *Solução (4)* e *Solução (5)*, registrar os cromatogramas por 3,5 vezes o tempo de retenção do fluconazol e medir as áreas sob os picos. Identificar as impurezas A, B e C com os cromatogramas obtidos com as *Soluções (3)*, *(4)* e *(5)*, respectivamente. O tempo de retenção referente ao pico do fluconazol é de cerca de 11 minutos. O tempo de retenção relativo das impurezas B, A e C é 0,4, 0,5 e 0,8, respectivamente. A área sob o pico corresponde à impureza A, no cromatograma da *Solução (1)*, é, no máximo, 0,8 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,4%). A área sob o pico corresponde à impureza B não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (4)* (0,3%). A área sob o pico corresponde à impureza C não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (5)* (0,1%). O pico de cada impureza não especificada, no cromatograma da *Solução (1)*, é, no máximo, 0,2 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A somatória das áreas sob todos os picos é, no máximo, 1,2 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,6%). Desconsiderar os picos com área inferior a 0,1 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 0,5 g da amostra em 5 mL de álcool etílico. Adicionar 5 mL de água, homogeneizar e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro, Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o resíduo obtido no teste de *Resíduo por incineração* e proceder conforme descrito no *Método III*, a partir de "adicionar 4 mL de ácido clorídrico 6 *M*...". Utilizar 2,5 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)* para *Preparação padrão*. No máximo, 0,0025% (25 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente ou utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 15,314 mg de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

FLUCONAZOL CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Agitar quantidade do pó equivalente a 10 mg de fluconazol com 20 mL de álcool metílico. Filtrar e evaporar o filtrado até secura. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Fluconazol*.

B. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de fluconazol para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir com ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,02% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução a 0,02% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo em 261 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de fluconazol SQR.

C. Dissolver quantidade do pó equivalente a 0,25 g da amostra em 5 mL de acetona e filtrar. Adicionar, sob agitação, cinco a oito gotas de ácido crômico a 5% (p/v). Produz-se precipitado em cinco segundos.

D. Adicionar 3 mL de cloreto férrico a 1% (p/v) em ácido acético glacial a uma quantidade do pó equivalente a 50 mg de fluconazol e agitar. Adicionar ácido sulfúrico *M* cuidadosamente pelas paredes do tubo. A coloração deve passar a alaranjada e amarela.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e medir as absorvâncias das soluções em 261 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de fluconazol SQR na concentração de 0,02% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de fluconazol para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir com ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,02% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 261 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 260 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 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (78:22).

Solução amostra: pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir, quantitativamente, quantidade do pó equivalente a 50 mg de fluconazol para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fluconazol SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,5 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FLUNITRAZEPAM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de nitrometano, éter etílico, *n*-heptano e amônia a 25% (v/v) (30:60:15:2,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 20 mg de flunitrazepam e adicionar 20 mL de álcool metílico, agitar e filtrar.

Solução (2): solução de flunitrazepam SQR a 1 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar com solução de hidróxido de sódio a 10% (p/v). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Pesar, individualmente, e transferir cada comprimido para tubo de centrifugação, adicionar 5 mL de água e deixar em banho de ultrassom até desintegração do comprimido. Adicionar 25 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom três minutos e agitar por 10 minutos. Centrifugar por 10 minutos, filtrar o sobrenadante em membrana com porosidade de 0,45 µm. Diluir, sucessivamente em álcool metílico até a concentração de 0,0016% (p/v). Proceder conforme descrito em *Doseamento*, a partir de "Preparar solução padrão...". Calcular a quantidade de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ em cada comprimido a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: fluido gástrico simulado, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 279 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6

mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 670 mL de fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com acetonitrila. Ajustar o pH da solução para 6,2 com solução de hidróxido de potássio 0,25 *M*.

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota suficiente do meio de dissolução, filtrar em membrana de 0,45 μm, resfriar e diluir no *Meio de dissolução*, se necessário, até a concentração de 1,1 μg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 22 mg de flunitrazepam SQR, transferir para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 100 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom até completa dissolução. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, no *Meio de dissolução* de modo a obter solução a 1,1 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 100 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 85% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, quantidade do pó equivalente a 16 mg de flunitrazepam. Adicionar 10 mL de água e agitar até completa dissolução. Completar o volume com álcool metílico, agitar, em agitador magnético, por 20 minutos e filtrar em membrana de 0,45 μm. Diluir, sucessivamente, em álcool metílico até a concentração de 0,0016% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando álcool metílico como solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 309 nm **(5.2.14)**, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

FLUNITRAZEPAM SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos ao observado no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e hidróxido de amônio a 25% (v/v) (90:10:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir. Proceder ao abrigo da luz direta.

Solução (1): diluir volume da solução injetável em álcool etílico de modo a obter concentração de aproximadamente 0,5 mg/mL.

Solução (2): solução de flunitrazepam SQR a 0,5 mg/mL em álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).* Podem aparecer outras manchas devido à presença dos excipientes.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3.9 a 4,7.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar 0,5 mL/kg, empregando flunitrazepam a 0,2 mg/mL em solução fisiológica.

DOSEAMENTO

Transferir volume da solução injetável, equivalente à 0,2 g de flunitrazepam para balão volumétrico de 200 mL, dissolver e completar o volume com álcool metílico. Diluir, sucessivamente, com álcool metílico até a concentração de 0,0015% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 309 nm **(5.2.14)**, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ na solução injetável, a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

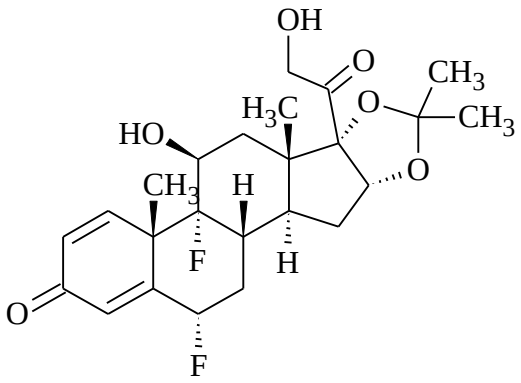
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FLUOCINOLONA ACETONIDA

Fluocinoloni acetonidum



$C_{24}H_{30}F_2O_6$; 452,49
fluocinolona acetonida; 04159
(6*α*,11*β*,16*α*)-6,9-Diflúor-11,21-di-hidroxi-16,17-[(1-metiletilideno)bis(oxi)]-pregna-1,4-dieno-3,20-diona
[*67-73-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{24}H_{30}F_2O_6$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico e em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +98 a +108, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fluocinolona acetonida SQR, preparado de maneira idêntica. Caso sejam observadas diferenças, dissolver a amostra e o padrão, separadamente, em álcool etílico, evaporar o solvente e traçar novos espectros com os resíduos.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz direta. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 238 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 mL/minuto. Preparar as soluções descritas a seguir.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (45:55).

Solução (1): solução da amostra a 2,5 mg/mL em acetonitrila.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetonitrila.

Solução (3): dissolver 2,5 mg de fluocinolona acetonida SQR e 2,5 mg de triancinolona acetonida em 45 mL de acetonitrila. Completar o volume para 100 mL com água e agitar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,85 para triancinolona acetonida e 1,0 para fluocinolona acetonida. A resolução entre fluocinolona acetonida e triancinolona acetonida no cromatograma é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*. Registrar os cromatogramas por, no mínimo, quatro vezes o tempo de retenção do pico referente à fluocinolona acetonida e medir a área sob os picos. A soma das áreas sob todos os picos secundários obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 2,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (2,5%). Nenhum pico secundário obtido com a *Solução amostra* apresenta área superior à sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (1,0%). No máximo, um pico secundário obtido com a *Solução (1)* apresenta área superior à metade da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). Desconsiderar os picos com área inferior a 0,05 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo, 1,0% para a forma anidra e, no máximo, 8,5% para a forma hidratada.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm, coluna de 100 mm de comprimento e 4,5 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e tetraidrofurano (77:13:10).

Solução amostra: transferir 20 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 23 mL de mistura de acetonitrila e tetraidrofurano (13:10), completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 20 mg de fluocinolona acetonida SQR, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 23 mL de mistura de acetonitrila e tetraidrofurano (13:10), completar o volume com água e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 3000 pratos teóricos. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 3,0%.

O fluxo da *Fase móvel* deve ser ajustado para que o tempo de retenção do pico de fluocinolona acetonida esteja entre 9 e 13 minutos.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{24}H_{30}F_2O_6$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

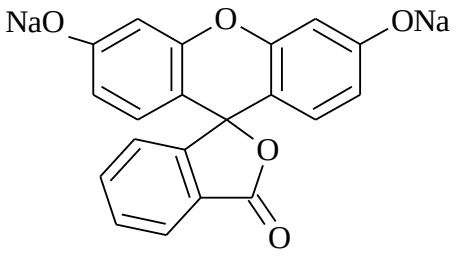
Observar a legislação vigente. O rótulo deve indicar se a forma da fluocinolona acetonida é a anidra ou a hidratada.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório esteroide.

FLUORESCEÍNA SÓDICA

Fluoresceinum natricum



$C_{20}H_{10}Na_2O_5$; 376,27
fluoresceína sódica; 04167
Sal de sódio de 3',6'-di-hidroxiespiro[isobenzofuran-1(3*H*),9'-[9*H*]xanten]-3-ona (2:1)
[*518-47-8*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{20}H_{10}Na_2O_5$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, vermelho-alaranjado e higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. Calcinar 0,1 g da amostra em cadinho de porcelana. Dissolver o resíduo em 5 mL de água e filtrar. A solução satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 7,0 a 9,0. Determinar em solução aquosa a 2% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução (2): transferir 5 mL da *Solução padrão* obtida *em Doseamento* para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução (3): solução contendo 0,005 mg/mL de resorcinol SQR, 0,005 mg/mL de ácido ftálico SQR e 0,005 mg/mL de composto relacionado C da fluoresceína SQR (ácido 2-(2,4-dihidroxibenzoil)benzoico) em *Diluente*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. A resolução entre ácido ftálico e resorcinol é, no mínimo, 1,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada uma das soluções, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção relativos à fluoresceína, cujo tempo de retenção é de cerca de 15 minutos, são cerca de 0,42 para resorcinol, 0,48 para ácido ftálico e 0,86 para composto relacionado C da fluoresceína. Determinar a porcentagem de cada uma das impurezas encontradas na *Solução (1)*, onde o conteúdo individual de resorcinol, ácido ftálico e composto relacionado C da fluoresceína é, no máximo, 0,5%, em relação à fluoresceína sódica. A porcentagem máxima para qualquer outra impureza individual é de 0,1% e de, no máximo, 0,5% para a soma de todas as impurezas presentes. Não considerar picos relativos ao solvente ou com área inferior a 0,05% a área sob o pico da fluoresceína. O teste somente será válido se a resolução entre os picos do resorcinol e do ácido ftálico, na *Solução padrão (2)*, for maior que 1,5.

Acriflavina. Dissolver 10 mg da amostra em 5 mL de água e adicionar algumas gotas de solução aquosa de salicilato de sódio a 10% (p/v). Não ocorre formação de precipitado.

Zinco. Dissolver 0,1 g da amostra em 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico 3 *M*, agitar vigorosamente e filtrar. Adicionar 1 mL de ferrocianeto de potássio SR. Não é produzida turbidez.

Água (5.2.20.1). No máximo, 17,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 220 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 35 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Eluente A: dissolver 0,61 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para 2,0, com ácido fosfórico. Desgaseificar e filtrar.

Eluente B: acetonitrila.

Diluente: mistura do *Eluente A* e *Eluente B* (70:30).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 20	85 → 20	15 → 80	gradiente linear
20 – 29	20	80	isocrática
29 – 30	20 → 85	80 → 15	gradiente linear
30 – 35	85	15	isocrática

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver 110 mg de diacetilfluoresceína SQR, o equivalente a 100 mg de fluoresceína sódica, em mistura de 10 mL de álcool etílico e 2 mL de hidróxido de sódio 2,5 *M*. Aquecer em banho-maria fervente por 20 minutos, com agitação. Resfriar, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água de modo a obter solução de fluoresceína sódica a 1 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra* , registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente diagnóstico.

FLUORETO DE SÓDIO
Natrii fluoridum

NaF; 41,99
fluoreto de sódio; 04170
Fluoreto de sódio
[*7681-49-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de NaF, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco.

Solubilidade. Solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir 1 g da amostra para cadinho de platina, em capela, e adicionar 15 mL de ácido sulfúrico. Cobrir com uma peça de vidro límpida e polida e aquecer em banho-maria por uma hora. Retirar a tampa de vidro, lavar com água e secar. A superfície do vidro fica marcada.

B. A solução a 4% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 2 g da amostra em 40 mL de água em cápsula de platina, adicionar 10 mL de solução saturada de nitrato de potássio, resfriar a solução a 0 ºC e adicionar três gotas de fenolftaleína SI. Se a solução adquirir coloração rosa, no máximo, 0,5 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* é necessário para viragem do indicador. Se a solução permanecer incolor, no máximo, 2 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* são necessários para desenvolvimento de coloração rosa persistente por 15 segundos.

Fluorossilicato. Aquecer até ebulição a solução neutralizada obtida em *Acidez ou alcalinidade* e titular, ainda quente, com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até coloração rosa permanente. São necessários, no máximo, 1,5 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV.

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 0,3 g da amostra em 20 mL de água e adicionar 0,2 g de ácido bórico, 1 mL de ácido nítrico SR e 1 mL de nitrato de prata 0,1 *M*. Qualquer turvação resultante não é mais intensa do que a de um padrão preparado com 0,1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*, utilizando os mesmos reagentes. No máximo, 0,012% (120 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Transferir 1 g da amostra para cápsula ou cadinho de platina, adicionar 1 mL de água e 3 mL de ácido sulfúrico. Aquecer, em capela, a uma temperatura tão baixa quanto possível, até que todo o ácido sulfúrico tenha sido expelido. Dissolver o resíduo em 20 mL de água e neutralizar com hidróxido de amônio, utilizando fenolftaleína SI. Adicionar 1 mL de ácido acético glacial, diluir com água para 45 mL e filtrar. Prosseguir conforme descrito em *Método I* utilizando 30 mL do filtrado. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 150 ºC, por quatro horas. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 80 mg da amostra, adicionar 5 mL de anidrido acético, 20 mL de ácido acético glacial e aquecer brandamente até completa dissolução. Deixar esfriar e adicionar 20 mL de dioxano. Adicionar três gotas de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até coloração verde esmeralda. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 4,199 mg de NaF.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Profilático dental.

FLUORETO DE SÓDIO SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de NaF.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir 0,1 mL da solução oral para tubo de ensaio, adicionar 0,1 mL de mistura de alizarina SI e nitrato de zirconila a 0,1% (p/v) em ácido clorídrico 7 *M* (1:1). Desenvolve-se coloração amarela.

B. Se necessário, reduzir o volume da solução oral por aquecimento em banho-maria até volume contendo aproximadamente 10 mg de sódio por mililitro. A solução resultante satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Proceder a uma determinação potenciométrica com eletrodo íon-seletivo para fluoreto.

Solução tamponante: a 500 mL de água, adicionar 57 mL de ácido acético glacial, 58 g de cloreto de sódio e 4 g de ácido 1,2-cicloexileno-dinitrilo-tetracético (CDTA). Em um banho de água fria, adicionar lentamente, sob agitação, solução concentrada de hidróxido de sódio SR até pH entre 5,3 e 5,5. Transferir para um balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução amostra: diluição da amostra em água (1:100).

Solução padrão: preparar a solução estoque de referência de fluoreto a 100 mg/L em água, utilizando fluoreto de sódio grau analítico. Construir a curva analítica com as soluções de referência de fluoreto nas seguintes concentrações: 0,25 mg/L; 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 2,5 mg/L e 5,0 mg/L.

Procedimento: para cada 10 mL da *Solução amostra* ou da *Solução padrão*, adicionar 10 mL de *Solução tamponante*. Sob agitação magnética, medir os potenciais das soluções. Construir um gráfico relacionando as concentrações de fluoreto dos padrões na ordenada (em escala logarítmica, $\log_{10}$) com as medições das diferenças de potencial na abscissa (em escala normal). Determinar a concentração de fluoreto em mg/L. Cada mg de fluoreto equivale a 2,211 mg de NaF.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FLUORETO ESTANOSO
Stannosi fluoridum

SnF_2; 156,71
fluoreto estanoso; 09827
Fluoreto de estanho
[*7783-47-3*]

Contém, no mínimo, 71,2% do íon estanho (Sn^{2+}) e, no mínimo, 22,3% e, no máximo, 25,5% de fluoreto em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó branco. Ponto de fusão **(5.2.2)**: em torno de 213 °C.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,25 g de amostra em 25 mL de água. Em um tubo de ensaio, adicionar 2 mL de cloreto de cálcio SR a 5 mL da solução amostra. Ocorre formação de um precipitado branco de fluoreto de cálcio.

B. Utilizar a mesma solução amostra do teste **A.** de *Identificação*. Adicionar duas gotas de nitrato de prata 0,1 *M* em duas gotas da solução amostra. Ocorre formação de um precipitado preto.

C. Adicionar duas gotas de cloreto mercúrico SR em uma gota da solução amostra do teste **A.** de identificação. Ocorre formação de um precipitado branco. Com a adição de um excesso da solução amostra, ocorre formação de um precipitado preto.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,8 a 3,5. Determinar em solução a 0,4% (p/v) recentemente preparada.

Substâncias insolúveis em água. Transferir 5 g de amostra para um béquer, adicionar 100 mL de água e agitar por três minutos ou até ocorrer completa dissolução. Filtrar em cadinho, com tamanho de poro entre 10 e 16 μm, de massa conhecida e previamente tarado. Lavar com solução fluoreto de amônio a 1% (p/v) e com água. Secar o resíduo por quatro horas a 105 °C, resfriar e pesar. O peso do resíduo não excede 0,2%.

Antimônio.

Solução amostra: transferir 1 g de fluoreto estanoso para um balão volumétrico com capacidade para 50 mL, dissolver em ácido clorídrico 6 *M* e completar para o volume de 50 mL com o mesmo solvente.

Solução padrão: transferir 55 mg de tartarato de antimônio e potássio para um balão volumétrico de 200 mL, dissolver em água e completar para o volume de 200 mL com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução para um balão volumétrico de 500 mL, dissolver em ácido clorídrico 6 *M* e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução de rodamina B: dissolver 20 mg de rodamina B em 200 mL de ácido clorídrico 0,5 *M*.

Pipetar 5 mL da *Solução amostra* e da *Solução padrã*o para funis de separação distintos, adicionar 15 mL de ácido clorídrico, 1 g de sulfato cérico e deixar em repouso por cinco minutos, agitando ocasionalmente. Adicionar 500 mg de cloridrato de hidroxilamina e agitar por um minuto. Transferir 15 mL de éter isopropílico para a solução, agitar por 30 segundos, adicionar 7 mL de água e agitar novamente. Resfriar em banho-maria à temperatura ambiente por 10 minutos, agitar por 30 segundos, deixar em repouso até ocorrer separação das fases e descartar a fase aquosa. Adicionar 20 mL da *Solução de rodamina B*, agitar por 30 segundos e descartar a fase aquosa. Decantar a fase etérea e, se necessário, centrifugar para obter uma solução límpida. Determinar a absorvância das soluções obtidas a partir da *Solução amostra* e *Solução padrão* em comprimento de onda máximo de 550 nm. A absorvância da *Solução amostra* não excede a absorvância da *Solução padrão* (0,005%). Realizar prova em branco.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Íon estanoso.

Solução de iodeto iodato de potássio 0,1 M SV: em um balão volumétrico de 1000 mL, dissolver 3,567 g de iodato de potássio, previamente dessecado a 110 °C até peso constante, em 200 mL de água contendo 1 g de hidróxido de sódio e 10 g de iodeto de potássio. Completar o volume com água. Padronizar essa solução por titulação utilizando estanho metálico grau analítico (99,5% de pureza) e dissolver em ácido clorídrico. Cada mL de iodeto iodato de potássio 0,1 *M* equivale a 5,936 mg de Sn^{2+}.

Pesar, com exatidão, cerca de 250 mg de fluoreto estanoso e dissolver em 300 mL de ácido clorídrico 3 *M* aquecido (recentemente fervido). Girar o frasco contendo a amostra, enquanto passa fluxo de gás inerte (isento de oxigênio) pela superfície do líquido. Arrefecer à temperatura ambiente. Adicionar 5 mL de iodeto de potássio SR, 3 mL de amido SI e titular com *Solução de iodeto iodato de potássio 0,1 M SV* em atmosfera inerte. Cada mL de iodeto iodato de potássio 0,1 *M* equivale a 5,936 mg de Sn^{2+}.

Íon fluoreto.

Nota: *exceto a Solução tamponante, preparar e armazenar todas as soluções em recipientes plásticos.*

Solução tamponante: dissolver 57 mL de ácido acético glacial, 58 g de cloreto de sódio e 4 g de ácido 1,2-cicloexileno-dinitrilo-tetracético em 500 mL de água. Ajustar o pH para 5,25 ± 0,25 com hidróxido de sódio e completar o volume para 1000 mL com água.

Solução amostra: transferir 100 mg de fluoreto estanoso para um balão volumétrico de 250 mL. Adicionar 50 mL de água, agitar vigorosamente por cinco minutos e completar para o volume de 250 mL com água. Transferir 10 mL dessa solução para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água.

Solução padrão: dissolver uma quantidade exata de fluoreto de sódio SQR em água para obter uma solução a 0,42 mg/mL. Cada mL dessa solução (*Solução padrão A*) contém 0,19 mg do íon fluoreto (10^{-2} *M*). Transferir 25 mL desta solução para um balão volumétrico de 250 mL, completando o volume com água. Esta solução, *Solução padrão B*, contém 19 µg do íon fluoreto por mL (10^{-3} ***M*)**. Transferir 25 mL desta solução para um balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Esta solução, *Solução padrão C*, contém 1,9 µg do íon fluoreto por mL (10^{-4} *M*).

Pipetar 20 mL de cada *Solução padrão A, B* e *C*, transferir para béqueres de plástico distintos e acrescentar, em cada frasco, 20 mL da *Solução tamponante*. Determinar o potencial de cada *Solução padrão* e da *Solução amostra*, em mV, utilizando um eletrodo íon seletivo para fluoreto. Durante a realização das medidas, imergir o eletrodo na solução sob agitação magnética e aguardar até o equilíbrio ser atingido, para registrar o valor de potencial. Lavar o eletrodo com água entre as medidas e secar cuidadosamente para evitar danos à membrana sólida do eletrodo. Elaborar uma curva analítica, plotando um gráfico do logaritmo da concentração do íon fluoreto (em µg/mL) versus o potencial (em mV). Calcular a concentração do íon fluoreto na solução amostra por interpolação do valor de potencial registrado na curva analítica para a *Solução amostra*. A porcentagem do íon fluoreto é calculada pela fórmula: 125C/W, onde C é a concentração do íon fluoreto determinada na amostra em µg/mL e W é a massa utilizada da amostra, em mg.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

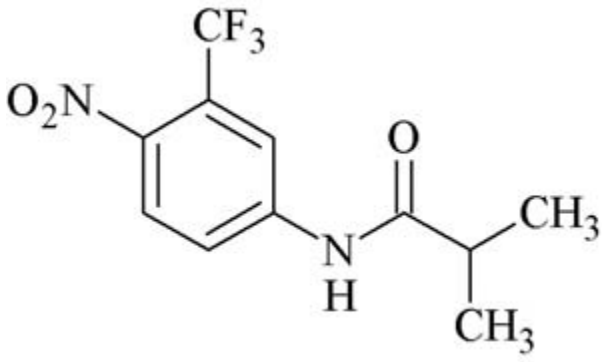
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Profilático à cárie dentária.

FLUTAMIDA
Flutamidum



$C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$; 276,21
flutamida; 04220
2-Metil-*N*-[4-nitro-3-(trifluormetil)fenil]propanamida
[*13311-84-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino amarelo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 110 °C a 114 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de flutamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (50:50).

Solução (1): dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 50 mL com a *Fase móvel*. Diluir 2 mL dessa solução para 20 mL com a *Fase móvel*.

Solução (3): preparar solução contendo 0,04 mg/mL da impureza C da flutamida SQR (N-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenil)propanamida) e 0,04 mg/mL de flutamida SQR em *Fase móvel*. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 20 mL e completar com *Fase móvel*, obtendo solução a 2 µg/mL da impureza C da flutamida e da flutamida.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para flutamida e 0,72 para impureza C da flutamida. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. A resolução entre flutamida e impureza C da flutamida é, no mínimo, 10,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5 %.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico relativo à impureza C no cromatograma obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, 1,5 vezes a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (0,3%). Nenhuma outra impureza individual pode apresentar área sob o pico superior à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). A soma das áreas sob todos os picos secundários, exceto a sob o pico do solvente, é, no máximo, 2,5 vezes a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,25 vezes a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 um cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 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* 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (50:50).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de flutamida SQR *na Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL.

Solução de resolução: preparar solução em *Fase móvel* contendo aproximadamente 0,5 mg de *o*-flutamida SQR por mililitro. Transferir 1 mL dessa solução e 1 mL da *Solução padrão* para balão volumétrico de 50 mL e completar com *Fase móvel,* obtendo solução a 0,01 mg/mL de *o*-flutamida e de flutamida.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para flutamida e 1,4 para *o*-flutamida. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. A resolução entre *o*-flutamida e flutamida é, no mínimo, 6,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiandrogênico.

FLUTAMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio e acetato de etila (3:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 15 mg de flutamida para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com mistura de clorofórmio e álcool metílico (5:1).

Solução (2): dissolver cerca de 15 mg de flutamida SQR em 10 mL de uma mistura de clorofórmio e álcool metílico (5:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha referente à flutamida obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: solução aquosa de laurilsulfato de sódio a 3% (p/v), 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em solução aquosa de laurilsulfato de sódio a 3% (p/v) até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 306 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de flutamida SQR na concentração de 0,0025% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 300 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* e álcool metílico (30:70).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 125 mg de flutamida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de uma mistura de álcool metílico e água (95:5). Agitar mecanicamente por 30 minutos e completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico de modo a obter solução de flutamida a 0,25 mg/mL.

Solução padrão: diluir quantidade, pesada com exatidão, de flutamida SQR em álcool metílico de modo a obter solução a 0,25 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

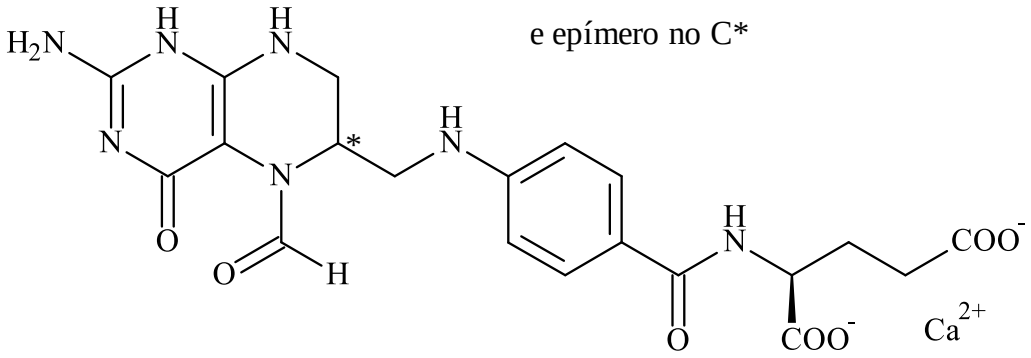
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FOLINATO DE CÁLCIO
Calcii folinas



$C_{20}H_{21}CaN_7O_7$; 511,50
folinato de cálcio; 00197
Sal de cálcio do ácido *N*-[4-[[(2-amino-5-formil-1,4,5,6,7,8-hexaidro-4-oxo-6-pteridinil)metil] amino]benzoil]-L-glutâmico (1:1)
[*1492-18-8*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amorfo ou cristalino, branco ou amarelado, higroscópico.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +14,4 a +18,0 em relação à substância anidra. Determinar em solução a 2,5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de folinato de cálcio SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz à reação 2 do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 2,5% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e amarela. Medir a absorvância da solução a 420 nm, utilizando água para ajuste do zero. A absorvância não deve ser maior que 0,60.

pH (5.2.19). 6,8 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 2,5% (p/v).

Substâncias relacionadas. 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 4,0 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 1,0 mL/minuto. Preparar as soluções descritas a seguir.

Fase móvel: misturar 220 mL de álcool metílico e 780 mL de uma solução contendo 2,0 mL de solução de hidróxido de tetrabutilamônio a 40% (p/v) e 2,2 g de fosfato de sódio dibásico. Ajustar pH da fase móvel para 7,8 com ácido fosfórico.

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Diluente* para obter solução a 1,0 mg/mL.

*Solução (2)*dissolver quantidade, pesada com exatidão, de folinato de cálcio SQR em *Fase móvel* para obter solução a 1,0 mg/mL.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (2)* com água até 100 mL.

Solução (4): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido formilfólico SQR (impureza D) em *Fase móvel* para obter solução a 0,1 mg/mL. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com água.

Solução (5): diluir 1 mL da *Solução (4)* com água até 10 mL.

Solução (6): diluir 5 mL da *Solução (4)* com *Solução (3)* até 10 mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (6)*. A resolução entre folinato de cálcio e impureza D é, no mínimo, 2,2. Registrar os cromatogramas por, no mínimo, 2,5 vezes o tempo de retenção do folinato de cálcio.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e *Solução (3), (4), (5)* e *(6)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente à impureza D não deve ser maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (4)* (1,0%); impurezas A, B, C, E, F, G: a área sob o pico correspondente a cada impureza não deve ser maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (1,0%). A soma das impurezas, exceto a D, deve ser, no máximo, 2,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (2,5%); não considerar picos com áreas inferiores à sob o pico principal obtido com a *Solução (5)* (0,1%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Água (5.2.20.3). Determinar em 0,1 g da amostra. No máximo, 17,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

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

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

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,5 UE/mg de folinato de cálcio.

DOSEAMENTO

Nota: *Proceder ao abrigo da luz direta. Realizar o doseamento sem interrupção prolongada.*

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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: misturar 835 mL de água, 125 mL de acetonitrila e 15 mL de solução de hidróxido de tetrabutilamônio a 25% (p/v) em álcool metílico. Ajustar pH para 7,5 ± 0,1 com fosfato de sódio monobásico 2 *M* e completar o volume para 1000 mL com água.

Diluente: misturar 900 mL de água e 15 mL de solução de hidróxido de tetrabutilamônio a 25% (p/v) em álcool metílico. Ajustar pH para 7,5 ± 0,1 com fosfato de sódio monobásico 2 *M* e completar o volume para 1000 mL com água.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Diluente* de modo a obter uma solução a 0,2 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de folinato de cálcio SQR em *Diluente* de modo a obter uma solução a 0,2 mg/mL.

Solução de resolução: transferir 17,5 mg de ácido fólico para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em *Diluente* e completar o volume com mesmo solvente. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Solução padrão*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 15 μL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para folinato de cálcio e 1,6 para ácido fólico. A resolução entre ácido fólico e folinato de cálcio é, no mínimo, 3,6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 15 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antídoto aos antagonistas do ácido fólico.

FOSFATO DE ALUMÍNIO
Aluminii phosphas

$AlPO_4$; 121,95
fosfato de alumínio; 00200
Sal de alumínio do ácido fosfórico (1:1)
[*7784-30-7*]

$AlPO_4.⅓H_2O$; 127,96
fosfato de alumínio terc-hidratado; 11401
Sal de alumínio do ácido fosfórico hidratado (3:3:1)
[1117729-44-8]

Contém, no mínimo, 94,0% e, no máximo, 102,0% de $AlPO_4$, em relação à substância incinerada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos e em soluções diluídas de ácidos minerais.

IDENTIFICAÇÃO

A. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon alumínio **(5.3.1.1)**.

B. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Transferir 2 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 50 mL de ácido clorídrico SR e completar o volume com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,2. Pesar 2,0 g da amostra, adicionar 50 mL de água, sob agitação vigorosa por cinco minutos, e determinar o pH.

Capacidade neutralizante. Passar quantidade suficiente da amostra por um tamis de abertura de 75 µm. A 0,5 g da amostra peneirada, adicionar 30 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, previamente aquecido a 37 °C. Manter essa mistura a 37 °C por 30 minutos, agitando continuamente. Após 30 minutos, o pH **(5.2.19)** da mistura, a 37 °C, é entre 2,0 e 2,5.

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 54,4 mg da amostra em 30 mL de ácido nítrico a 20% (p/v) e filtrar. Utilizar 15 mL dessa solução e 1 mL da *Solução padrão de ácido clorídrico 0,01 M*. No máximo, 1,3% (13 000 ppm).

Fosfatos solúveis. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 5 g da amostra e misturar com 150 mL de água. Agitar por duas horas. Filtrar e lavar com 50 mL de água. Recolher o filtrado em balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água, obtendo a *Solução (1)*. Paralelamente, transferir 2,86 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em água e completar o volume

com o mesmo solvente, obtendo *Solução (2)*. Transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com água, obtendo *Solução (3)*. Transferir 3 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com água, obtendo a *Solução (4)*. Transferir 5 mL de cada solução obtida para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 4 mL de ácido sulfúrico *M*, 1 mL de molibdato de amônio SR, 5 mL de água e 2 mL de uma solução contendo 0,1 g de sulfato de 4-metilaminofenol, 0,5 g de sulfito de sódio anidro, 20 g de metabissulfito de sódio em 100 mL com água. Agitar e deixar em repouso por 15 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e deixar em repouso por mais 15 minutos. Medir a absorvância das soluções resultantes em 730 nm. Calcular a concentração de PO_4^{3-} na *Solução (1)* a partir da curva de calibração preparada com as *Soluções (2), (3)* e *(4)*. No máximo, 1,0%.

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 0,4 g da amostra e filtrar para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume e homogeneizar. Utilizar 12,5 mL dessa solução e 2,5 mL da *Solução padrão de ácido sulfúrico 0,005 M*. No máximo, 0,6% (6000 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 3 g da amostra. Proceder conforme descrito em *Método espectrofotométrico, Método I,* e utilizar 1 mL de *Solução padrão de arsênio*. No máximo, 0,0001% (1 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver 2 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico SR. Utilizar 10 mL dessa solução. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar a 800 °C, até peso constante. Entre 10,0% e 20,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra previamente incinerada, dissolver em 10 mL de ácido clorídrico diluído e diluir a 100 mL com água. A 10 mL dessa solução, adicionar 10 mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV e 30 mL de mistura de acetato de amônio SR e ácido acético diluído (1:1). Ferver por três minutos, deixar esfriar. Adicionar 25 mL de álcool etílico e 1 mL de ditizona a 0,025% (p/v) em álcool etílico, recém-preparada. Titular o excesso de edetato dissódico 0,1 *M* SV com sulfato de zinco 0,1 *M* SV até mudança para rosa. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 12,195 mg de $AlPO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido.

FOSFATO DE AMÔNIO DIBÁSICO

Ammonii hydrogenophosphas

$(NH_4)_2HPO_4$; 132,06
fosfato de amônio dibásico; 04277
Sal de amônio do ácido fosfórico (2:1)
[*7783-28-0*]

Contém, no mínimo, 96,0% e, no máximo, 102,0% de $(NH_4)_2HPO_4$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou cristais, brancos ou quase brancos.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon amônio **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.9.1). 7,6 a 8,2. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar *Método espectrofotométrico*, *Método I*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 1,22 g da amostra. No máximo, 0,03% (300 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 0,8 g da amostra. No máximo, 0,15% (1500 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água. No máximo, 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,6 g da amostra em 40 mL de água. Titular com ácido sulfúrico 0,05 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente no pH 4,6. Cada mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* SV equivale a 13,206 mg de $(NH_4)_2HPO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, não metálicos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tamponante, agente sequestrante.

FOSFATO DE CÁLCIO DIBÁSICO DI-HIDRATADO

Calcii hydrogenophosphas dihydricus

$CaHPO_4.2H_2O$; 172,09
fosfato de cálcio dibásico di-hidratado; 04278
Sal de cálcio do ácido fosfórico hidratado (1:1:2)
[*7789-77-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $CaHPO_4.2H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácido clorídrico e ácido nítrico, pouco solúvel em ácido acético diluído.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver aproximadamente 0,1 g da amostra, utilizando aquecimento, em mistura de 5 mL de ácido clorídrico 3 *M* e 5 mL de água. Adicionar, gota a gota, sob agitação, 2,5 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e adicionar 5 mL de oxalato de amônio SR. Produz-se precipitado branco.

B. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de ácido nítrico diluído. Aquecer a solução a 70 °C, adicionar 2 mL de solução recentemente preparada de molibdato de amônio SR. Produz-se precipitado amarelo de fosfomolibdato de amônio.

ENSAIOS DE PUREZA

Bário. Dissolver 2,5 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico SR e filtrar, se necessário. Adicionar amônia SR até formação de precipitado. Adicionar ácido clorídrico SR até dissolução do precipitado e completar o volume para 50 mL com água. A 10 mL dessa solução, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico diluído SR. A outra alíquota de 10 mL da mesma solução, adicionar 0,5 mL de água. Após 15 minutos, qualquer opalescência na alíquota adicionada de ácido não é mais intensa que a obtida com a alíquota adicionada de água.

Carbonatos. Misturar 0,5 g da amostra com 5 mL de água isenta de dióxido de carbono e adicionar 1 mL de ácido clorídrico. Não se observa efervescência.

Fosfatos monocálcico e tricálcico. Dissolver 2 g da amostra em 30 mL de ácido clorídrico *M* SV, adicionar 20 mL de água e 0,05 mL de alaranjado de metila SI. Titular o excesso de ácido clorídrico *M* SV com hidróxido de sódio *M* SV. O consumo de ácido clorídrico *M* SV está entre 11 mL e 12,5 mL.

Substâncias insolúveis em ácido. Aquecer 5 g da amostra com mistura de 40 mL de água e 10 mL de ácido clorídrico, até máxima solubilização, e completar o volume para 100 mL com água. Se um resíduo insolúvel aparecer, filtrar em papel de filtro quantitativo, lavar com água quente, até a reação para cloretos ser negativa. Incinerar o resíduo e o papel de filtro a 600 ± 50 °C, por uma hora. No máximo, 0,2%.

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver 2,5 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico SR. Filtrar, se necessário, e adicionar amônia SR até formação de precipitado. Adicionar ácido clorídrico SR até dissolução do

precipitado e completar o volume para 50 mL com água. Utilizar 20 mL dessa solução e prosseguir conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,0002% (2 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,42 g da amostra em mistura de 3 mL de ácido nítrico e 20 mL de água. Diluir para 50 mL com água. Utilizar 5 mL dessa solução. No máximo, 0,25% (2500 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 2,5 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico SR. Filtrar, se necessário, e adicionar amônia SR até formação de precipitado. Adicionar ácido clorídrico SR até dissolução do precipitado e completar o volume para 50 mL com água. Utilizar 5 mL dessa solução e prosseguir conforme descrito em *Método I*. Utilizar 1 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe)*. No máximo, 0,04% (400 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver, tanto quanto possível, por meio de aquecimento, 1,3 g da amostra em 3 mL de ácido clorídrico 3 *M*, resfriar e diluir para 50 mL com água. Determinar em 25 mL dessa solução. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 0,8 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico SR. Filtrar, se necessário, e adicionar amônia SR até formação de precipitado. Adicionar ácido clorídrico SR até dissolução do precipitado e completar o volume para 50 mL com água. Utilizar 15 mL dessa solução. No máximo, 0,5% (5000 ppm).

(5.2.9.1) Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar entre 800 °C e 825 °C até peso constante. Entre 24,5% e 26,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra, dissolver em mistura de 2,5 mL de ácido clorídrico SR e 5 mL de água. Adicionar 25 mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV e diluir a 200 mL com água. Neutralizar com hidróxido de amônio e adicionar 10 mL de solução tampão cloreto de amônio pH 10,7 e aproximadamente 50 mg de negro de eriocromo T. Titular o excesso de edetato dissódico com sulfato de zinco 0,1 *M* SV até coloração violeta. Realizar ensaio em branco. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 17,209 mg de $CaHPO_4.2H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, não metálicos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento de cálcio.

FOSFATO DE CÁLCIO TRIBÁSICO

Tricalcii phosphas

$Ca_5(OH)(PO_4)_3$; 502,31
fosfato de cálcio tribásico; 00203
Hidroxifosfato de cálcio
[*12167-74-7*]

Fosfato de cálcio tribásico consiste de uma mistura variável de fosfatos de cálcio. Contém, no mínimo, 35,0% e, no máximo, 40,0% de Ca (40,08).

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco e insípido.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácido clorídrico e de ácido nítrico. Praticamente insolúvel em ácido acético.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de solução de ácido nítrico a 25% (v/v). A solução satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Bário. Pesar 0,5 g da amostra. Adicionar 10 mL de água, aquecer, adicionar ácido clorídrico, gota a gota, até obter solução e adicionar duas gotas do ácido em excesso. Filtrar e adicionar ao filtrado 1 mL de solução aquosa de sulfato de potássio 1% (p/v). A solução obtida deve permanecer límpida.

Substâncias insolúveis em ácido. Dissolver 5 g da amostra em uma mistura de 10 mL de ácido clorídrico e 30 mL de água. Filtrar, lavar o resíduo com água e secar em estufa a 105 °C, até peso constante. A massa do resíduo é, no máximo, 10 mg (0,2%).

Arsênio (5.3.2.5). Adicionar 0,75 g da amostra a 20 mL de água. Adicionar ácido clorídrico até completa dissolução e prosseguir conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,0004% (4 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Adicionar 0,25 g da amostra a 10 mL de água. Adicionar 1 mL de ácido nítrico, agitar até dissolução e diluir para 40 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo, 0,14% (1400 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 2,5 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico diluído. Filtrar, se a preparação não se apresentar límpida. Adicionar amônia diluída, lentamente, até formação de precipitado. Dissolver o precipitado em ácido clorídrico diluído e completar o volume para 50 mL com água. Utilizar 5 mL da solução obtida e proceder conforme descrito em *Método I*. Utilizar 1 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe)*. No máximo, 0,04% (400 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 0,6667 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico a 10% (p/v) e aquecer em banho-maria durante cinco minutos. Diluir com água para 25 mL e proceder conforme descrito em *Método I*. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Adicionar 0,15 g da amostra a 10 mL de água. Adicionar 1 mL de ácido clorídrico até completa dissolução e diluir para 40 mL com água. No máximo, 0,8% (8000 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar em mufla a 800 ± 25 ºC até peso constante. No máximo, 8,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,2 g da amostra em mistura de 1 mL de ácido clorídrico SR e 5 mL de água. Adicionar 25 mL de edetato dissódico 0,1 *M* e completar o volume para 200 mL com água. Ajustar o pH da solução para 10,0 com amônia e adicionar 10 mL de tampão cloreto de amônio pH 10,0. Utilizar negro de eriocromo T SI como indicador. Titular o excesso de edetato dissódico 0,1 *M* com sulfato de zinco 0,1 *M* SV até viragem do indicador de azul para violeta. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* equivale a 4,008 mg de Ca.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

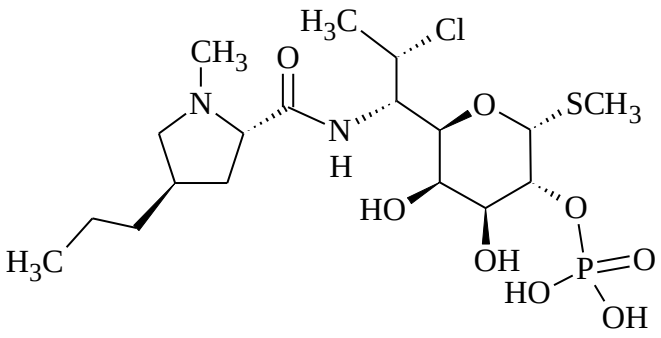
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento e adjuvante farmacotécnico.

FOSFATO DE CLINDAMICINA

Clindamycini phosphas



$C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$; 504,96
fosfato de clindamicina; 02232
2-(Di-hidrogenofosfato) de 7-cloro-6,7,8-tridesoxi-6-[[[(2*S*,4*R*)-1-metil-4-propil-2-pirrolidinil] carbonil]amino]-1-tio-L-*treo*-*α*-D-galacto-octopiranosídeo de metila
[*24729-96-2*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, ligeiramente higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +115 a +130, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 1% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fosfato de clindamicina SQR, preparado de maneira idêntica. Caso o espectro da amostra não se apresente idêntico ao do padrão, dissolver, separadamente, a amostra e o padrão em água, evaporar até a secura sob pressão reduzida, dessecar a 105 °C por duas horas e repetir o teste com os resíduos.

B. Aquecer, sob refluxo, 0,1 g da amostra com mistura de 5 mL de solução concentrada de hidróxido de sódio SR e 5 mL de água, por 90 minutos. Resfriar. Acrescentar 5 mL de ácido nítrico. Extrair com três porções de 15 mL de cloreto de metileno. Filtrar a camada aquosa. O filtrado satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em água, com aquecimento, se necessário. Resfriar e completar o volume para 25 mL com água. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 3,5 a 4,5. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,1 mL/minuto.

Eluente A: mistura de acetonitrila e tampão fosfato de sódio monobásico a 1,36% (p/v) (21:79) pH 6,0 ajustado com solução de hidróxido de potássio 45% p/v.

Eluente B: mistura de acetonitrila e tampão fosfato de sódio monobásico a 1,36% (p/v) (60:40) pH 6,0 ajustado com solução de hidróxido de potássio 45% p/v.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 13	100	0	isocrática
13 - 18	100 → 50	0 → 50	gradiente linear
18 - 39	50	50	gradiente linear

Solução (1): dissolver 30 mg da amostra em *Eluente A* e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 30 mg de fosfato de clindamicina SQR em *Eluente A* e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 20 mL com *Eluente A*. Diluir 1 mL desta solução para 10 mL com *Eluente A*.

Solução (4): dissolver 3,0 mg de fosfato de clindamicina para adequação do sistema SQR (contendo as impurezas B, E, F, G, I, J, K e L) e diluir para 10 mL em *Eluente A*.

Injetar, separadamente, replicatas de 20 μL das *Soluções (2)* e *(4)*. Os tempos de retenção relativos ao fosfato de clindamicina, cujo tempo de retenção é de cerca de doze minutos, são cerca de 0,15 para a impureza F (2-fosfato de lincomicina (metil 6,8-dideoxi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidina-2-il]carbonil]amino]-2-O-fosfono-1-tio-D-eritro-a-D-galacto-octopiranosideo)), 0,19 para a impureza G (2,4-fosfatidil lincomicina (metil 6,8-dideoxi-2,4-O-(hidroxifosforil)-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidina-2-il]carbonil]amino]1-tio-D-eritro-a-D-galacto-octopiranosideo)), 0,34 para a impureza I (2,4-bisfosfato de clindamicina (metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S,4R)-4-etil-1-metilpirrolidina-2-il]carbonil]amino]-2,4-di-O-fosfono-tio-L-treo-a-D-galacto-octopiranosideo)), 0,45 para a impureza B (2-fosfato de clindamicina B (metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S,4R)-4-etil-1-metilpirrolidina-2-il]carbonil]amino]-2-O-fosfono-tio-L-treo-a-D-galacto-octopiranosideo)), 0,64 para a impureza L (2-fosfato de 7-epiclindamicina (metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidin-2-il]carbonil]amino]-2-O-fosfono-1-tio-D-eritro-a-D-galacto-octopiranosideo)), 1,20 para impureza J (análogo propilideno de 2-fosfato de clindamicina (metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S)-1-metil-4-propilidenopirrolidina-2-il]carbonil]amino]-2-O-fosfono-tio-L-treo-a-D-galacto-octopiranosideo)), 1,73 para a impureza E (clindamicina (metil 7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S-4R)-1-metil-4-propilpirrolidina-2-il]carbonil]amino]-1-tio-L-treo-a-D-galacto-octopiranosideo)) e 1,9 para a impureza K (pirofosfato de diclindamicina (2,2'-oxibis(hidroxifosforil)bis[metil-7-cloro-6,7,8-

trideoxi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidin-2-il]carbonil]amino]-1-tio-L-treo-a-D-galacto-octopiranosideo])). A resolução entre os picos da impureza G e impureza F é, no mínimo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)* e *(3)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Determinar a porcentagem de cada uma das impurezas encontradas na *Solução amostra* em relação à concentração de fosfato de clindamicina na *Solução (3)*. No máximo, 1,0% de impureza B, 0,5% de impureza E, 0,5% de impureza F, 0,2% de impureza G, 0,2% de impureza I, 0,2% de impureza J e 0,2% de impureza K. No máximo, 0,1% para outra impureza individual. No máximo, 2,0% do total de impurezas encontradas. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vezes a área sob o pico principal obtido na *Solução (3)*.

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,25 g da amostra. No máximo, 6,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar o *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,6 UE/mg de fosfato de clindamicina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 200 mL de acetonitrila e 800 mL de fosfato de potássio monobásico a 1,36% (p/v), previamente ajustado para pH 2,5 com ácido fosfórico.

Solução amostra: transferir 75 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e misturar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de fosfato de clindamicina SQR na *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 3 mg/mL.

Solução de resolução: dissolver 5 mg de cloridrato de lincomicina SQR e 15 mg de cloridrato de clindamicina SQR em 5 mL da *Solução padrão* e completar o volume para 100 mL com a *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. O doseamento será válido somente se o pico de cloridrato de lincomicina estiver separado do pico do solvente. A resolução entre os picos de fosfato de clindamicina e cloridrato de clindamicina é, no mínimo, 6,0.. O fator de cauda para o pico de fosfato de clindamicina é, no máximo, 1,5.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Quando a substância é destinada à produção de preparações parenterais, o rótulo deve indicar se o produto é estéril ou se deve ser esterilizado durante o processo.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano; antiprotozoário.

FOSFATO DE CLINDAMICINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de clindamicina ($C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool metílico, tolueno e amônia 18 *M* (70:30:1,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume da solução injetável equivalente a 50 mg de fosfato de clindamicina para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução (2): solução a 5 mg/mL de fosfato de clindamicina SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio diluído SR. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,58 UE/mg de fosfato de clindamicina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de 250 mL de acetonitrila e 750 mL de fosfato de potássio monobásico 1,36% (p/v), previamente ajustado para pH 2,5 com ácido fosfórico.

Solução amostra: diluir volume da solução injetável na *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,15 mg/mL de clindamicina.

Solução padrão: solução a 0,18 mg/mL de fosfato de clindamicina SQR na *Fase móvel*.

Solução resolução: solução contendo 0,12 mg/mL de cloridrato de lincomicina SQR e 0,24 mg/mL de fosfato de clindamicina SQR na *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de cloridrato de lincomicina e fosfato de clindamicina é, no mínimo, 7,7. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*. Cada mg de fosfato de clindamicina ($C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$) equivale a 0,8416 mg de clindamicina ($C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

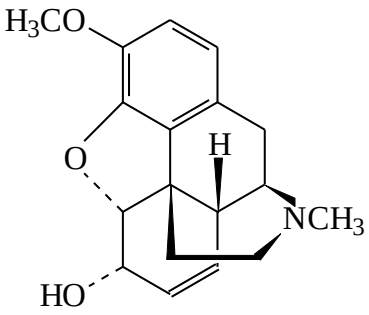
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz, em temperaturas entre 8 °C e 30 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FOSFATO DE CODEÍNA

Codeini phosphas



· H_3PO_4 · 1/2 H_2O

$C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.$ ½ H_2O; 406,37
fosfato de codeína hemi-hidratado; 10802
Fosfato de (5α,6α)-7,8-didehidro-4,5-epoxi-3-metoxi-17-metilmorfinan-6-ol.
[*41444-62-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,5% de $C_{18}H_{21}NO_3H_3PO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -98 a -102, em relação à substância dessecada. Determinar em solução aquosa a 2% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**. Os testes de identificação **B.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **C**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fosfato de codeína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Diluir 25 mL de uma solução da amostra a 0,04% (p/v) em água, em balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de hidróxido de sódio *M* e completar o volume com água. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 350 nm, há máximo em 284 nm. A absorvância em 284 nm é de, aproximadamente, 0,38.

C. Satisfaz às reações de fosfato **(5.3.1.1).**

D. Satisfaz às reações de alcaloides **(5.3.1.1).**

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 4% (p/v).

Acidez. Dissolver 0,1 g da amostra em 20 mL de água e titular com hidróxido de sódio 0,01 *M* SV até pH 5,4, determinado com auxílio de potenciômetro. No máximo, 1 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* SV é requerido para promover a mudança do pH.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool etílico absoluto, cicloexano e hidróxido de amônio (72:30:6), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 40 mg/mL da amostra em álcool etílico absoluto.

Solução (2): diluir 2 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool etílico absoluto.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool etílico absoluto.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar na câmara de revelação. Pulverizar a placa com uma solução de 3 mL de ácido cloroplatínico a 10% (v/v), 97 mL de água e 100 mL de iodeto de potássio a 6% (p/v). Examinar a placa. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (2,0%) e nenhuma outra mancha tem intensidade superior ao da *Solução (3)* (1,0%).

Limite de morfina. Dissolver 0,05 g de ferrocianeto de potássio em 10 mL de água e adicionar uma gota de cloreto férrico SR e 1 mL da solução amostra a 1% (p/v) em água. Não produz coloração azul imediatamente.

Cloretos. Acidificar 10 mL da solução amostra a 1% (p/v), em água, com ácido nítrico e adicionar algumas gotas de nitrato de prata 0,1 *M*. Nenhuma opalescência é produzida de imediato.

Sulfatos. A 10 mL da solução amostra a 1% (p/v) em água, adicionar algumas gotas de cloreto de bário a 12% (p/v). Nenhuma turbidez é produzida imediatamente.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,5 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, até peso constante. No mínimo, 1,5% e, no máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não-aquoso* **(5.3.4.5)**. Dissolver 0,35 g da amostra previamente dessecada em 10 mL de anidrido acético e 20 mL de dioxano. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando 0,05 mL de cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 39,737 mg de $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agonista dos receptores opióides; analgésico.

FOSFATO DE SÓDIO DIBÁSICO

Natrii hydrogenophosphas

Na_2HPO_4; 141,96
fosfato de sódio dibásico; 00207
Sal de sódio do ácido fosfórico (2:1)
[*7558-79-4*]

$Na_2HPO_4.H_2O$; 159,97
fosfato de sódio dibásico monoidratado; 11657
Sal dissódico do ácido fosfórico monoidratado (2:1:1)
[*118830-14-1*]

$Na_2HPO_4.2H_2O$; 177,99
fosfato de sódio dibásico di-hidratado; 00209
Sal dissódico do ácido fosfórico di-hidratado (2:1:2)
[*10028-24-7*]

$Na_2HPO_4.7H_2O$; 268,07
fosfato de sódio dibásico heptaidratado; 00211
Sal dissódico do ácido fosfórico heptaidratado (2:1:7)
[*7782-85-6*]

$Na_2HPO_4.12H_2O$; 358,14
fosfato de sódio dibásico dodecaidratado; 00210
Sal de sódio do ácido fosfórico dodecaidratado (2:1:12)
[*10039-32-4*]

Fosfato de sódio dibásico é anidro ou contém uma, duas, sete ou doze moléculas de água de hidratação. Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de Na_2HPO_4, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Anidro**:** Pó incolor ou branco, higroscópico. Di-hidratado: pó branco ou quase branco, ou cristais incolores. Heptaidratado: Sal granular incolor ou branco, que efloresce em ar seco e quente. Dodecaidratado: cristais incolores, transparentes, muito eflorescentes.

Solubilidade. Anidro e di-hidratado: Solúveis em água, praticamente insolúveis no álcool etílico. Heptaidratado: Facilmente solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico. Dodecaidratado: muito solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução aquosa a 3% (p/v) satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

B. A solução aquosa a 3% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias insolúveis. Dissolver quantidade da amostra equivalente a 5 g de Na_2HPO_4 em 100 mL de água quente, filtrar em cadinho de Gooch tarado, lavar o resíduo com água quente e dessecá-lo a 105 °C por duas horas. O peso do resíduo é, no máximo, 20 mg (0,4%).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método espectrofotométrico*, *Método I*. Determinar em solução contendo o equivalente a 187,5 mg de Na_2HPO_4 em 35 mL de água. No máximo, 0,0016% (16 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em quantidade da amostra equivalente a 0,6 g de Na_2HPO_4. No máximo, 0,06% (600 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver quantidade da amostra equivalente a 2,1 g de Na_2HPO_4 em 50 mL de água e utilizar 24 mL da solução obtida para *Preparação amostra*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em quantidade da amostra equivalente a 0,6 g de Na_2HPO_4. No máximo, 0,2% (2000 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar em estufa a 130 °C, até peso constante. No máximo, 5,0% para a forma anidra; entre 10,3% e 12,0% para a forma monoidratada; entre 18,5% e 21,5% para a forma di-hidratada; entre 43,0% e 50,0% para a forma heptaidratada e entre 55,0% e 64,0% para a forma dodecaidratada.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, quantidade da amostra equivalente a 1 g de Na_2HPO_4 e dissolver em 40 mL de água. Adicionar, com auxílio de pipeta volumétrica, 15 mL de ácido clorídrico *M*. Titular potenciometricamente com hidróxido de sódio *M* SV, até ponto de inflexão próximo a pH 4,0 e anotar o volume gasto. Continuar a titulação até o segundo ponto de inflexão, próximo a pH 8,8. Realizar ensaio em branco, transferindo 15 mL de ácido clorídrico *M* com pipeta volumétrica e 40 mL de água para erlenmeyer e titulando potenciometricamente com hidróxido de sódio *M* SV. A diferença entre o volume de hidróxido de sódio *M* SV gasto no ensaio em branco e o volume gasto na titulação da amostra até o ponto de inflexão pH 4,0 é o *Volume A*. A diferença entre o volume de hidróxido de sódio *M* SV gasto entre os pontos de inflexão pH 4,0 e pH 8,8 é o *Volume B*. Se o *Volume A* for igual ou menor do que o *Volume B*, cada mL do *Volume A* de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 141,960 mg de Na_2HPO_4. Se o *Volume A* for maior do que o *Volume B*, cada mL de (2 *Volume B*) – *Volume A* de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 141,960 mg de Na_2HPO_4.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, não metálicos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adjuvante.

FOSFATO DE SÓDIO MONOBÁSICO

Natrii dihydrogenophosphas

NaH_2PO_4; 119,98
fosfato de sódio monobásico; 00212
Sal de sódio do ácido fosfórico (1:1)
[*7558-80-7*]

$NaH_2PO_4.H_2O$; 137,99
fosfato de sódio monobásico monoidratado; 09331
Sal monossódico do ácido fosfórico monoidratado (1:1:1)
[*10049-21-5*]

$NaH_2PO_4.2H_2O$; 156,01
fosfato de sódio monobásico di-hidratado; 00213
Sal de sódio do ácido fosfórico hidratado (1:1:2)
[*13472-35-0*]

Fosfato de sódio monobásico é anidro ou contém uma ou duas moléculas de água de hidratação. Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 103,0% de NaH_2PO_4, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou cristais incolores ou brancos e levemente deliquescente.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução aquosa a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

B. A solução aquosa a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,1 a 4,5. Determinar em solução contendo o equivalente a 1 g de $NaH_2PO_4.H_2O$ em 20 mL de água.

Substâncias insolúveis. Dissolver quantidade da amostra equivalente a 10 g de $NaH_2PO_4.H_2O$ em 100 mL de água quente, filtrar em cadinho de Gooch tarado, lavar o resíduo com água quente e dessecar a 105 °C por duas horas. O peso do resíduo é, no máximo, 20 mg (0,2%).

Alumínio, cálcio e elementos relacionados. A solução contendo o equivalente a 1 g de $NaH_2PO_4.H_2O$ em 10 mL de água não apresenta turbidez quando o meio é levemente alcalinizado com hidróxido de amônio 6 *M*, utilizando papel tornassol rosa.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método espectrofotométrico*, *Método I*. Determinar em solução contendo o equivalente a 0,375 g de $NaH_2PO_4.H_2O$ em 35 mL de água. No máximo, 0,0008% (8 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em quantidade da amostra equivalente a 2,5 g de $NaH_2PO_4.H_2O$. No máximo, 0,014% (140 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Dissolver quantidade da amostra equivalente a 1 g de $NaH_2PO_4.H_2O$ em 20 mL de água, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 3 *M* e completar o volume para 25 mL com água. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em quantidade da amostra equivalente a 0,8 g de $NaH_2PO_4.H_2O$. No máximo, 0,15% (1500 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 2,0% para a forma anidra; entre 10,0% e 15,0% para a forma monoidratada e entre 18,0% e 26,5% para a forma di-hidratada.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, com exatidão, cerca de 2,5 g da amostra em 10 mL de água fria e adicionar 20 mL de solução saturada de cloreto de sódio fria. Titular com hidróxido de sódio *M* SV, utilizando fenolftaleína SI como indicador e mantendo a temperatura da solução entre 10 e 15 °C durante a titulação. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 119,980 mg de NaH_2PO_4.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, não metálicos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adjuvante.

FOSFATO DE SÓDIO SOLUÇÃO ORAL

Solução oral de fosfato de sódio é uma solução contendo fosfato de sódio dibásico e fosfato de sódio monobásico ou fosfato de sódio dibásico e ácido fosfórico em água purificada. Contém, em 100 mL, no mínimo, 16,2 g e, no máximo, 19,8 g de fosfato de sódio dibásico heptaidratado ($Na_2HPO_4.7H_2O$) e, no mínimo, 43,2 g e, no máximo, 52,8 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado ($NaH_2PO_4.H_2O$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

Densidade relativa (5.2.5). 1,333 a 1,366.

pH (5.2.19). Entre 4,4 e 5,2.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pipetar 25 mL de amostra, transferir para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água. Transferir 25 mL dessa solução para um béquer de 250 mL, adicionar 15 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* e 75 mL de água. Titular o excesso de base, potenciometricamente, com ácido clorídrico 0,5 *M* SV até o primeiro ponto de inflexão (em pH próximo a 9,2). O volume de ácido clorídrico 0,5 *M* gasto é o *Volume A*. Continuar a titulação até o segundo ponto de inflexão (pH próximo a 4,4) e registrar *Volume B*. Para a determinação do branco, transferir 15 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* para um béquer de 250 mL, adicionar 100 mL de água e titular imediatamente com ácido clorídrico 0,5 *M* SV. Registrar o volume do ácido clorídrico 0,5 *M* SV consumido (*Volume C*), em mL. Cada mL do volume (C-A) de ácido clorídrico 0,5 *M* equivale a 68,995 mg de fosfato de sódio monobásico monoidratado ($NaH_2PO_4.H_2O$) e cada mL do volume de (BC) de ácido clorídrico 0,5 *M* SV equivale a 134,035 mg de fosfato de sódio dibásico heptaidratado ($Na_2HPO_4.7H_2O$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

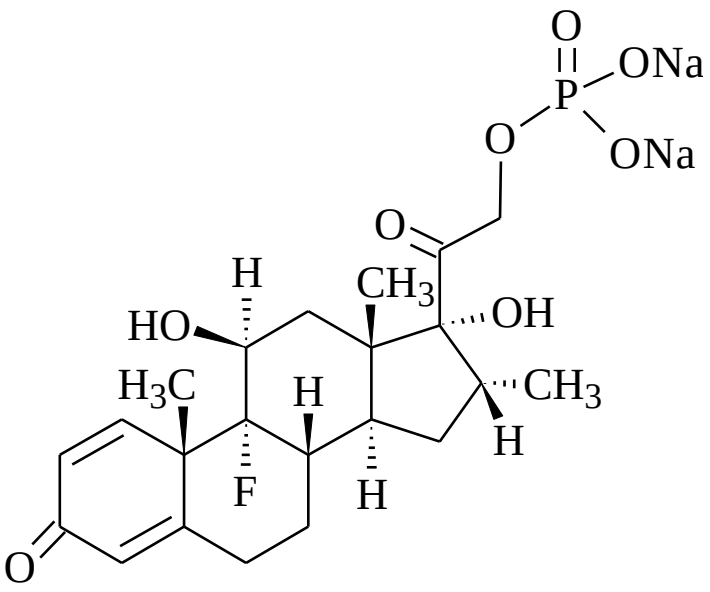
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FOSFATO DISSÓDICO DE DEXAMETASONA

Dexamethasoni natrii phosphas



$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$; 516,41
fosfato dissódico de dexametasona; 02821
Sal de sódio de (11*β*,16*α*)-9-fluor-11,17-di-hidroxi-16-metil-21-(fosfono-oxi)-pregna-1,4-dieno-3,20-diona (2:1)
[*2392-39-4*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, em relação à substância anidra, isenta de álcool etílico.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, muito higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico e em dioxano.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +75 a +83, em relação à substância anidra e isenta de álcool etílico. Determinar em solução a 1% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fosfato dissódico de dexametasona SQR, preparado de maneira idêntica. Se o espectro obtido no estado sólido mostrar diferenças, dissolver a substância a ser examinada e o fosfato dissódico de dexametasona SQR, separadamente, em um mínimo volume de álcool etílico, evaporar e secar em banho-maria. Registrar novos espectros usando os resíduos.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel HF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e água (180:15:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar 20 mg da amostra em um tubo de centrífuga. Adicionar 5 mL de solução de fosfatase alcalina, agitar vigorosamente e deixar em repouso por 30 minutos. Adicionar 5 mL de acetato de etila, agitar vigorosamente, centrifugar e utilizar a camada superior.

Solução (2): solução a 3 mg/mL de dexametasona SQR em acetato de etila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

C. Dissolver 2 mg em 2 mL de ácido sulfúrico e misturar. Desenvolve-se coloração marrom amarelado em cinco minutos. Adicionar 10 mL de água e misturar. A coloração desaparece e a preparação permanece límpida.

D. Incinerar a amostra conforme descrito em *Resíduo por incineração* **(5.2.10)**. O resíduo obtido satisfaz às reações do íon sódio e do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida **(5.2.25)**.

pH (5.2.19). 7,5 a 10,5. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 125 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura de 30 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Eluente A: dissolver 2,1 g de acetato de amônio em 650 mL de água, ajustar o pH para 3,8 com ácido acético e acrescentar 350 mL de álcool metílico.

Eluente B: dissolver 2,1 g de acetato de amônio em 300 mL de água, ajustar o pH para 4,0 com ácido acético glacial e acrescentar 700 mL de álcool metílico.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 3,5	90	10	isocrática
3,5 – 23,5	90 → 60	10 → 40	gradiente linear
23,5 – 34,5	60 → 5	40 → 95	gradiente linear
34,5 – 50	5	95	isocrática

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Eluente A* para obter solução a 1,0 mg/mL.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Eluente A*. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): dissolver 2 mg de fosfato dissódico de dexametasona SQR e 2 mg de fosfato sódico de betametasona (impureza B) em *Eluente A* e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver 20 mg de fosfato dissódico de dexametasona para identificação de picos SQR (contendo as impurezas A, C, D, E, F e G) em *Eluente A* e diluir para 2 mL com o mesmo solvente.

Injetar, separadamente, replicatas de 20 µL das *Soluções (3)* e *(4)*. Os tempos de retenção relativos ao fosfato dissódico de dexametasona, cujo tempo de retenção é de cerca de vinte e dois minutos, são cerca de 0,5 para a impureza C, cerca de 0,6 para impureza D, cerca de 0,8 para impureza E, cerca de 0,92 para impureza F, cerca de 0,95 para impureza B (fosfato de betametasona ou dihidrogenofosfato de 9-fluor-11b,17-dihidroxi-16b-metil-3,20-dioxopregna-1,4-dieno-21-il), cerca de 1,37 para impureza A (dexametasona ou 9-fluor-11b,17,21-trihidroxi-16a-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona) e cerca de 1,41 para impureza G (ácido 9-fluor-11b,17-dihidroxi-16a-metil-3-oxoandrosta-1,4-dien-17b-carboxílico). Para cada impureza C, D, E ou F, um ou mais diastereoisômeros de dihidrogenfosfato de (9-fluor-11b,17a-dihidroxi-16-metil-3,17-dioxo-D-homo-androsta-1,4-dien-17a-il)-metila) (estereoquímica indefinida em C16 e C17a) ou dihidrogenfosfato de (9-fluor-11b,17-dihidroxi-16a-metil-3,17a-dioxo-D-homo-androsta-1,4-dien-17-il) metila (estereoquímica indefinida em C17) podem estar presentes. A resolução entre fosfato sódico de betametasona e fosfato dissódico de dexametasona é, no mínimo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. A área sob o pico da impureza A no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é maior que cinco vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). A área sob o pico da impureza G no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é maior que três vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,3%). A área sob o pico de cada uma das impurezas B, C, D, E e F no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é maior que o dobro da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico do solvente e a sob o pico principal, não é maior que dez vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (1,0%). Não considerar picos com área inferior à metade da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Limite de álcool etílico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo a gás provido de detector de ionização de chamas, utilizando coluna capilar de 1 m de comprimento e 3,2 mm de diâmetro interno, preenchida com copolímero etilvinilbenzeno e divinilbenzeno com espessura de filme de 150 µm a 180 µm; temperatura da coluna de 150 °C, temperatura do injetor de 250 °C e temperatura do detector de 280 °C. Utilizar nitrogênio como gás de arraste; fluxo de 30 mL/minuto.

Solução de padrão interno: diluir 1 mL de álcool *n*-propílico para 100 mL de água.

Solução (1): dissolver 0,5 g da amostra em 5 mL de *Solução de padrão interno* e diluir para 10 mL com água.

Solução (2): diluir 1 mL de álcool etílico para 100 mL com água. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno* e completar o volume com água.

Procedimento: injetar, separadamente, 2 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de álcool etílico na amostra a partir das respostas obtidas para a relação álcool etílico / álcool *n*-propílico com a *Solução (1)* e a *Solução (2)*. No máximo, 1,5% (p/p) de álcool etílico.

Limite de íons fosfato. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Dissolver, com exatidão, cerca de 50 mg da amostra em mistura de 10 mL de água e 5 mL de ácido sulfúrico *M*. Aquecer, se necessário. Adicionar 1 mL de solução de molibdato de amônio a 5% (p/v) em ácido sulfúrico 0,05 *M* e 1 mL de sulfato de 4-metilaminofenol SR. Completar o volume para 25 mL com água, homogeneizar e deixar em repouso por 30 minutos. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando 5 mL da solução de fosfato de potássio monobásico a 0,01433% (p/v), ao invés da amostra, e os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 730 nm, utilizando água para ajuste do zero. A absorvância da solução da amostra não é maior que da solução padrão. No máximo, 1,0%.

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,2 g da amostra. No máximo, 10,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e dissolver em água. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em água, até a concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 241 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder como descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (7 µm), mantida à temperatura ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 2 mL de ácido fosfórico com 520 mL de água. Ajustar a temperatura para 20 ºC e ajustar o pH para 2,6 com solução de hidróxido de sódio. Misturar essa solução com 36 mL de tetraidrofurano e 364 mL de álcool metílico.

Solução amostra: dissolver 30 mg da amostra em *Fase móvel* e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir 5 mL dessa solução para 50 mL com *Fase móvel*.

Solução padrão: dissolver 30 mg de fosfato dissódico de dexametasona SQR em *Fase móvel* e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir 5 mL dessa solução para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução de resolução: dissolver 2 mg de dexametasona SQR (impureza A) e 2 mg de fosfato dissódico de dexametasona SQR em 2 mL de tetraidrofurano e diluir para 100 mL com *Fase móvel*. Diluir 5 mL dessa solução para 50 mL com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são de 1,0 para o fosfato dissódico de dexametasona, cujo tempo de retenção é de cerca de oito minutos, e 2,0 para a dexametasona. A resolução entre dexametasona e fosfato dissódico de dexametasona é, no mínimo, 6,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o triplo do tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

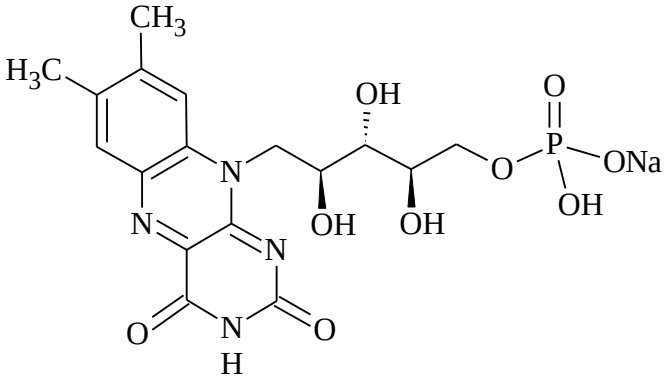
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatórios esteroides.

FOSFATO SÓDICO DE RIBOFLAVINA

Riboflavini natrii phosphas



$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P$; 478,33
fosfato sódico de riboflavina; 07703
Sal de sódio de 5'-(di-hidrogenofosfato) de riboflavina (1:1)
[*130-40-5*]

$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P.2H_2O$; 514,36
fosfato sódico de riboflavina di-hidratado; 11222
Sal monossódico de 5'-(di-hidrogenofosfato) de riboflavina di-hidratado
[6184-17-4]

Mistura contendo riboflavina 5'-(hidrogenofosfato de sódio) como principal componente e outros monofosfatos sódicos de riboflavina. Contém, no mínimo, 73,0% e, no máximo, 79,0% de riboflavina ($C_{17}H_{20}N_4O_6$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, amarelo ou laranja-amarelado, higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +38 a +43. Determinar em solução a 1,2% (p/v) em ácido clorídrico 5 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,001% (p/v) em tampão citro-fosfato pH 7,0 há máximo em 266 nm. A absorvância em 266 nm é entre 0,58 e 0,64.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde àquele do pico principal da *Solução (3)*.

C. Transferir 10 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver com hidróxido de sódio SR e completar o volume com o mesmo solvente. Expor 1 mL dessa solução à luz ultravioleta (254 nm) por cinco minutos. Acidificar a solução com ácido acético, utilizando papel de tornassol azul

como indicador. Agitar com 2 mL de cloreto de metileno. A fase inferior da mistura apresenta fluorescência amarela.

D. A 0,5 g da amostra, adicionar 10 mL de ácido nítrico e evaporar, em banho-maria, até secura. Aquecer o resíduo até adquirir coloração branca, dissolver em 5 mL de água e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)** e às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,5. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 266 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 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e fosfato de potássio monobásico a 0,735% (p/v) (15:85).

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 50 mL de água e completar o volume com *Fase móvel*. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (2): dissolver, quantitativamente, cerca de 60 mg de riboflavina SQR em 1 mL de ácido clorídrico e diluir para 250 mL com água. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (3): dissolver, quantitativamente, cerca de 0,1 g de fosfato sódico de riboflavina SQR em 50 mL de água e diluir para 100 mL com *Fase móvel*. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 100 μL da *Solução (1)* e da *Solução (3)*. Registrar o cromatograma até a completa eluição do pico correspondente à riboflavina. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,2 para riboflavina 3',4'-difosfato; 0,3 para riboflavina 3',5'-difosfato; 0,5 para riboflavina 4',5'-difosfato; 0,7 para riboflavina 3'-monofosfato; 0,9 para riboflavina 4'-monofosfato; 1,0 para riboflavina 5'-monofosfato; e 2,0 para riboflavina. A resolução entre riboflavina 4'-monofosfato e riboflavina e 5'-monofosfato no cromatograma obtido com a *Solução (3)* é, no mínimo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob o pico referente à riboflavina 5'-monofosfato é, no máximo, 1,5%

Procedimento: injetar, separadamente, 100 μL da *Solução (1)*, *Solução (2)* e *Solução (3)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de riboflavina livre e de difosfatos de riboflavina na amostra a partir das áreas sob os picos no cromatograma obtido com as *Soluções (1), (2)* e *(3)*. No máximo, 6,0% de riboflavina livre e 6,0% de difosfatos de riboflavina, em relação à substância dessecada.

Limite de lumiflavina. Agitar 35 mg da amostra com 10 mL de cloreto de metileno, recentemente preparado, por cinco minutos e filtrar. A absorvância **(5.2.14)** da solução resultante, em 440 nm, utilizando cloreto de metileno para ajuste do zero, é de, no máximo, 0,025.

Limite de fosfato livre. Dissolver 0,3 g da amostra em água, diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio e 5 mL de sulfato ferroso a 10% (p/v) em ácido sulfúrico 0,075

M. Homogeneizar. Preparar solução padrão de maneira similar utilizando 10 mL de fosfato de potássio monobásico a 0,0044% (p/v), 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio e 5 mL de sulfato ferroso a 10% (p/v) em ácido sulfúrico 0,075 *M*. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 700 nm **(5.2.14)**. Utilizar mistura de 10 mL de água, 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio e 5 mL de sulfato ferroso a 10% (p/v) em ácido sulfúrico 0,075 *M* para ajuste do zero. A absorvância da solução amostra não é superior à da solução padrão. No máximo, 1,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Transferir 2 g da amostra para cadinho de sílica, adicionar, gota a gota, 2 mL de ácido nítrico e 0,25 mL de ácido sulfúrico. Aquecer, cuidadosamente, até aparecimento de fumaça branca e ignição da amostra. Resfriar. Extrair o resíduo com duas porções de 2 mL de ácido clorídrico. Evaporar os extratos até secura. Dissolver o resíduo com 2 mL de ácido acético diluído e diluir para 20 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 °C, sob pressão reduzida, por cinco horas. No máximo, 8,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 25,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e dissolver em 150 mL de água. Adicionar 2 mL de ácido acético glacial e diluir para 1000 mL com água. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 3,5 mL de acetato de sódio a 1,4% (p/v) e completar o volume com água. Medir a absorvância da solução em 444 nm. Utilizar mistura de água e acetato de sódio a 1,4% (p/v) (93:7) para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{17}H_{20}N_4O_6$ na amostra considerando A(1%, 1 cm) = 328, em 444 nm.

B. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de fluorescência* **(5.2.15)**. Dissolver, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra em 20 mL de piridina e 75 mL de água, e diluir para 1000 mL com água. Preparar, de maneira idêntica, solução padrão de riboflavina SQR na concentração de 35 µg/mL. Transferir 10 mL de cada solução para balões volumétricos de 1000 mL. Adicionar ácido sulfúrico 0,05 *M* até ajuste de pH entre 5,9 e 6,1 (aproximadamente 4 mL) e completar o volume com água. Medir as intensidades de fluorescência das soluções resultantes em fluorímetro, em comprimento de onda de excitação de 440 nm e emissão de 530 nm. Calcular o teor de $C_{17}H_{20}N_4O_6$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

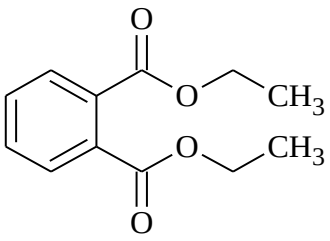
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Componente da vitamina B.

FTALATO DE ETILA

Ethylis phthalas



$C_{12}H_{14}O_4$; 222,24
ftalato de etila; 09828
Éster 1,2-dietílico do ácido 1,2-benzenodicarboxílico
[*84-66-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{14}O_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Líquido oleoso, incolor ou ligeiramente amarelado. Temperatura de ebulição **(5.2.3)**: em cerca de 295 °C.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, miscível com álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 1,117 a 1,121. Determinar a 20 °C.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,500 a 1,505. Determinar a 20 °C.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa entre placas de cloreto de sódio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ftalato de etila SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação examinada é límpida **(5.2.25)** e não é mais corada que a solução descrita a seguir **(5.2.12)**. Misturar 24 mL da *Solução base de cloreto férrico*, 6 mL da *Solução base de cloreto cobaltoso* e 70 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v). Transferir 12,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico a 1% (p/v).

Acidez. Dissolver 20 g da amostra em 50 mL de álcool etílico previamente neutralizado. Adicionar 0,2 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M*. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* é gasto para neutralizar a solução.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5).** Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas; coluna de vidro de 2 m de comprimento e

2 mm de diâmetro interno, com fase estacionária preenchida com terra diatomácea silanizada para cromatografia a gás, impregnada com 3% de polimetilfenilsiloxano, partículas de 150 µm a 180 µm, e nitrogênio para cromatografia como gás de arraste, com fluxo de 30 mL/minuto. Manter a temperatura da coluna em 150 °C e a temperatura do injetor e do detector em 225 °C.

Solução padrão interno: dissolver 60 mg de naftaleno em cloreto de metileno e diluir até 20 mL com o mesmo solvente.

Solução (1): dissolver 1,0 g da amostra em cloreto de metileno e diluir para 20 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 1,0 g da amostra em cloreto de metileno, adicionar 2 mL da *Solução padrão interno* e diluir até 20 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): a 1 mL da *Solução (1),* adicionar 10 mL da *Solução padrão interno* e diluir até 100 mL com cloreto de metileno.

Injetar separadamente 1 µL de cada uma das soluções no cromatógrafo gasoso. Deixar em eluição por três vezes o tempo de retenção do ftalato de etila. A ordem de eluição esperada é naftaleno seguido do ftalato de etila. A resolução entre os picos de ftalato de etila e naftaleno no cromatograma obtido com a *Solução (1)* é maior que 10. No cromatograma obtido com a *Solução (1),* nenhum pico deverá ter o mesmo tempo de retenção do que aquele obtido com a *Solução padrão interno*.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução (3)* e da *Solução (2),* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a razão - entre a área sob o pico do ftalato de etila e a área sob o pico do naftaleno obtido no cromatograma com a *Solução (3)*; calcular a razão entre a soma das áreas sob quaisquer picos, exceto a sob o pico principal e a sob o padrão interno, e a área sob o pico do naftaleno no cromatograma obtido com a *Solução (2)*. A razão é, no máximo, 1,0%.

Água (5.2.20.1). Determinar em 5 g da amostra. No máximo, 0,2%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da amostra e transferir para erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 25 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV e algumas pérolas de vidro. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, por uma hora. Adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e titular imediatamente com ácido clorídrico 0,5 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Calcular o volume de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV utilizado na saponificação. Cada mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV equivale a 55,560 mg de $C_{12}H_{14}O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, completamente cheios, protegidos da luz.

ROTULAGEM

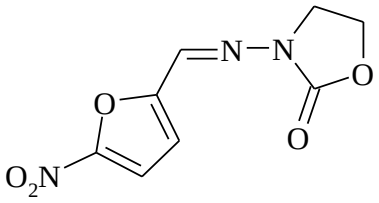
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacêutico.

FURAZOLIDONA

Furazolidonum



$C_8H_7N_3O_5$; 225,16
furazolidona; 04343
3-[[(5-nitro-2-furanil)-metileno]amino]-2-oxazolidona
[*67-45-8*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_8H_7N_3O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino amarelo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de furazolidona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em água, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de furazolidona SQR.

C. Adicionar, aproximadamente, 50 mg da amostra em 10 mL de uma mistura recém preparada de dimetilformamida e hidróxido de potássio etanólico a 0,5 *M* (90:10). A solução desenvolve coloração púrpura, passando para coloração azul intensa imediatamente. Após 10 minutos, desenvolve coloração púrpura novamente.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 100 ºC por uma hora. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo, 0,25%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 250 mL, dissolver em dimetilformamida e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Preparar solução padrão na

mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 367 nm, utilizando mistura de dimetilformamida e água (1:50) para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_8H_7N_3O_5$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

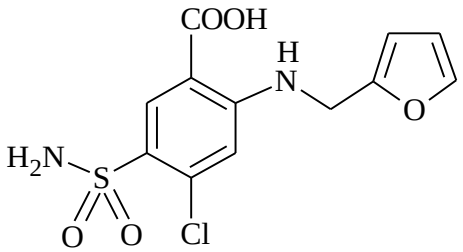
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano; antiprotozoário.

FUROSEMIDA

Furosemidum



$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$; 330,75
furosemida; 04361
Ácido 5-(aminossulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil)amino]benzoico
[*54-31-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.** *Os testes de identificação* **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A.**

A. . No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de furosemida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximos em 228 nm, 271 nm e 333 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de furosemida SQR. As absorvâncias das soluções em 271 nm, não diferem mais que 3%, quando calculadas em relação à substância dessecada.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde àquele do pico principal da *Solução (4).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 238 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto. Proteger as soluções da luz direta.

Fase móvel: dissolver 2,0 g de fosfato de potássio monobásico e 2,5 g de cetrimida em 700 mL de água, ajustar o pH para 7,0 com amônia e adicionar 300 mL de álcool propílico.

Solução (1): dissolver 50 mg de amostra em *Fase móvel* e diluir para 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 2 mg de substância relacionada A em *Fase móvel*, adicionar 2,0 mL da *Solução (1)* e diluir para 20 mL com o mesmo solvente. Diluir 0,5 mL dessa solução para 20 mL com *Fase móvel*.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Fase móvel*. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com *Fase móvel*.

Solução (4): dissolver 2 mg de furosemida para identificação de pico (SQR) (contendo as impurezas C e D) em 2 mL de *Fase móvel*.

Injetar, separadamente, replicatas de 20 µL das *Soluções (2)*, *(3)* e *(4)*. Os tempos de retenção relativos à furosemida, cujo tempo de retenção é de cerca de nove minutos, são cerca de 0,5 para a impureza C (ácido 2-amino-4-cloro-5-sulfamoilbenzoico), cerca de 0,8 para impureza A (ácido 2-cloro-4-[(furan-2-ilmetil)amino]-5-sulfamoilbenzoico) e cerca de 1,5 para impureza D (ácido 2,4-bis[(furan-2-ilmetil)amino]-5-sulfamoilbenzoico). A resolução entre o pico da furosemida e impureza A é, no mínimo, 4,0. A relação sinal-ruído é, no mínimo, 40 para o pico principal obtido com a *Solução (3)*.

Procedimento: injetar, separadamente, replicatas de 20 µL das *Soluções (1)* e *(3)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. Para fins de determinação dos limites, utilizar os seguintes fatores de correção como multiplicadores das áreas correspondentes às respectivas impurezas: 1,4 para impureza C e 2,0 para a impureza D. A área sob o pico relativo à impureza C, obtido com a *Solução (1)*, é, no máximo, o dobro da área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,2%). A área sob o pico relativo à impureza D, obtido com a *Solução (1)* e corrigida, é, no máximo, 1,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,15%). A área sob o pico relativo à cada uma das demais impurezas, obtidos com a *Solução (1)*, é, no máximo, igual a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,1%). O total de impurezas é, no máximo, cinco vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,05%).

Cloretos (5.3.2.1). A 1 g da amostra, adicionar uma mistura de 0,2 mL de ácido nítrico e 30 mL de água. Agitar durante cinco minutos, deixar em repouso durante 15 minutos e filtrar. Utilizar 15 mL do filtrado. No máximo, 0,02% (200 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). A 2 g da amostra, adicionar uma mistura de 0,2 mL de ácido acético e 30 mL de água. Agitar durante cinco minutos, deixar em repouso por 15 minutos e filtrar. Utilizar 15 mL do filtrado. No máximo, 0,03% (300 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar a 105 °C, por três horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,25 g da amostra em 20 mL de dimetilformamida, adicionar 0,2 mL de solução de azul de bromotimol a 1% (p/v) em dimetilformamida e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até coloração azul. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 33,075 mg de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

FUROSEMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 320 nm, da solução final obtida em *Doseamento*, há máximos de absorção em 228 nm e 271 nm.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Pesar, separadamente, cada comprimido, e triturar. Transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar hidróxido de sódio 0,1 *M*, agitar, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar, transferir 1 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 271 nm **(5.2.14)**, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ no comprimido, a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar o cálculo utilizando A(1%,1cm) = 580, em 271 nm.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 5,8, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com tampão fosfato pH 5,8 até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 271 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente, para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de furosemida SQR na concentração de 0,0008% (p/v) preparada com o mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Aminas aromáticas primárias livres. Pulverizar os comprimidos e pesar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de furosemida. Transferir para balão volumétrico de 25 mL, com auxílio de álcool metílico. Agitar, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Prosseguir como descrito em *Aminas aromáticas primárias livres*, na monografia de *Furosemida*, a partir de "Pipetar 1 mL do filtrado...". A absorvância obtida é, no máximo, 0,20.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó, equivalente a 0,2 g de furosemida, para balão volumétrico de 500 mL com auxílio de 300 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Agitar por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir 5 mL do filtrado para 250 mL com hidróxido de sódio 0,1 *M* e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm **(5.2.14)**, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar o cálculo utilizando A(1%,1cm) = 580, em 271 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FUROSEMIDA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume da solução injetável contendo o equivalente a 20 mg de furosemida para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir 5 mL da solução para 100 mL com hidróxido de sódio 0,1 *M*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução obtida, na faixa de 220 nm a 340 nm, há máximos em 228 nm e 271 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de furosemida SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 8,0 a 9,3.

ENSAIOS DE PUREZA

Aminas primárias aromáticas livres. Transferir volume da solução injetável contendo o equivalente a 40 mg de furosemida para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no ensaio de *Aminas primárias aromáticas livres* da monografia de *Furosemida*, a partir de "Pipetar 1 mL do filtrado...". A absorvância obtida é, no máximo, 0,20.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 3,6 UE/mg de furosemida.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pipetar volume da solução injetável contendo o equivalente a 20 mg de furosemida, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir 5 mL para 100 mL com hidróxido de sódio 0,1 *M* e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando solução hidróxido de sódio 0,1 *M*. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ na solução injetável a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 580, em 271 nm, em hidróxido de sódio 0,1 *M*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proteger as soluções da exposição à luz. 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 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, tetraidrofurano e ácido acético glacial (70:30:1).

Diluente: diluir 22 mL de ácido acético glacial em mistura de água e acetonitrila (50:50), completar o volume para 1000 mL e homogeneizar.

Solução amostra: transferir volume da solução injetável contendo o equivalente a 20 mg de furosemida para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Transferir 5 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de furosemida SQR no *Diluente* e diluir sucessivamente de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

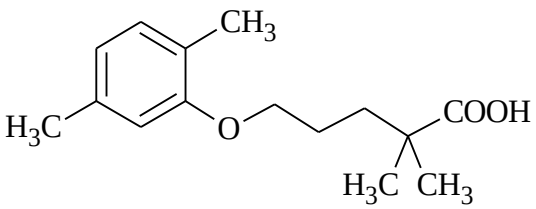
Em recipientes de vidro tipo I, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

GENFIBROZILA

Gemfibrozilum



$C_{15}H_{22}O_3$; 250,33
genfibrozila; 04421
Ácido 5-(2,5-dimetilfenoxi)-2,2-dimetilpentanoico
[*25812-30-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{22}O_3$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco, ceroso.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 58 °C a 61 °C.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de genfibrozila SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 276 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 10 mL de ácido acético glacial e 750 mL de álcool metílico para balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução (1): dissolver quantidades pesadas com exatidão de genfibrozila SQR, ácido 5-[2,5-dimetil-4-(1-propenil) fenoxi]-2,2-dimetilpentanoico (Impureza A) SQR e 2,5-dimetilfenol em *Fase móvel*, de modo a obter solução com concentrações em torno de 0,2 mg/mL, 0,05 mg/mL e 0,05 mg/mL, respectivamente.

Solução (2): transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de genfibrozila SQR e 10 mg de Impureza A SQR para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 50 mL de álcool metílico, completar o

volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL. Dissolver em *Fase móvel*, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Injetar replicatas de 100 µL da *Solução (1)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,35 para 2,5-dimetilfenol, 1,0 para genfibrozila e 2,1 para a Impureza A. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 100 µL das *Soluções (2)* e *(3)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico referente à genfibrozila e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente à impureza A no cromatograma obtido com a *Solução (3)* não é maior que a área sob o pico correspondente à impureza A obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A área sob o pico correspondente ao 2,5-dimetilfenol no cromatograma obtido com a *Solução (3)* não é maior que a área sob o pico correspondente ao 2,5-dinitrofenol obtido com a *Solução (2)* (0,1%). Nenhum outro pico no cromatograma obtido com a *Solução (3)* possui área maior que a área obtida com as impurezas já descritas (0,1%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (3)*, exceto a sob o pico do solvente e sob o pico principal, não é maior que cinco vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,5 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 1 g de amostra utilizando o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 1,5 g da amostra. No máximo, 0,25%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 276 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 10 mL de ácido acético glacial e 800 mL de álcool metílico para balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água e homogeneizar.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de genfibrozila SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente.

Homogeneizar. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução de resolução: preparar solução a 0,2 mg/mL de genfibrozila e 0,05 mg/mL de 2,5-dimetilfenol em *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre genfibrozila e 2,5-dimetilfenol é, no mínimo, 8,0. Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{15}H_{22}O_3$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

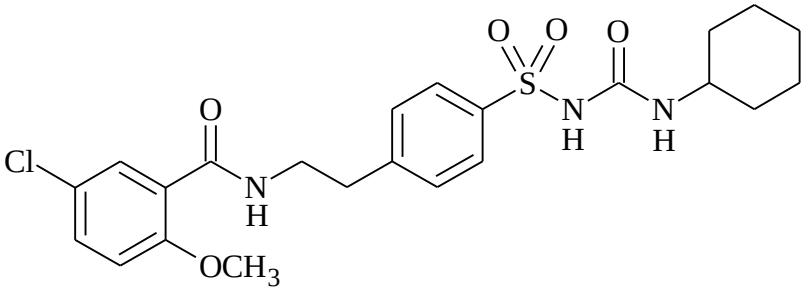
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antilipêmico.

GLIBENCLAMIDA

Glibenclamidum



$C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$; 494,00
glibenclamida; 04451
5-Cloro-*N*-[2-[4-[[[(cicloexilamino)carbonil]amino] sulfonil]fenil]etil]-2-metoxibenzamida
[*10238-21-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool metílico e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 169 ºC a 174 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de glibenclamida SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos se apresentarem diferentes, umedecer separadamente a amostra e a SQR em álcool metílico, triturar, dessecar entre 105 °C e 110 °C e obter novos espectros com os resíduos.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (3)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde àquele do pico principal da *Solução (1).*

C. Misturar 0,2 g da amostra com 0,25 g de carbonato de sódio anidro e 0,25 g de carbonato de potássio anidro. Incinerar a mistura por 10 minutos, esfriar, adicionar ao resíduo 10 mL de água quente, agitar por um minuto e filtrar. O filtrado satisfaz às reações dos íons cloreto e às do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 1% (p/v) da amostra em álcool etílico, preparada com auxílio de aquecimento, é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μm) com base desativada, mantida à temperatura de 35 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Eluente A: misturar 20 mL de solução de trietilamina a 101,8 g/L, recentemente destilada e com pH previamente ajustado para 3,0 com ácido fosfórico, com 50 mL de acetonitrila. Diluir para 1000 mL com água e homogeneizar.

Eluente B: mistura de *Eluente A*, água e acetonitrila (20:65:915).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 15	45	55	isocrática
15 – 30	45 → 5	55 → 95	gradiente linear
30 – 40	5	95	isocrática
40 – 41	5 → 45	95 → 55	gradiente linear
41 – 55	45	55	isocrática

Solução (1): dissolver, com exatidão, cerca de 10 mg de glibenclamida SQR, cerca de 5 mg de impureza A (5-cloro-2-metoxi-N-(2-(4-sulfamoilfenil)etil)benzamida) da glibenclamida SQR e 5 mg de impureza B (metil((4-(2-((5-cloro-2-metoxibenzoil)amino)etil)fenil)sulfonil)carbamato) da glibenclamida SQR em álcool metílico e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com álcool metílico e agitar.

Solução (2): dissolver, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra em álcool metílico, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e agitar.

Solução (3): diluir 2 mL da *Solução (2)* para 100 mL com álcool metílico. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico e agitar.

Solução (4): dissolver, com exatidão, cerca de 5 mg de gliclazida SQR em álcool metílico, adicionar 2 mL da *Solução (2)* e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com o mesmo solvente e agitar.

Os tempos de retenção relativos em relação à glibenclamida (tempo de retenção = cerca de cinco minutos) são cerca de 0,5 para impureza A, 0,6 para impureza B e 1,0 para a glibenclamida. A resolução entre glibenclamida e gliclazida é, no mínimo, 5,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL de cada solução, recentemente preparadas, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico da impureza A obtido com a *Solução (2)* não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (1)* (0,5%). A área sob o pico da impureza B obtido com a *Solução (2)* não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (1)* (0,5%). Qualquer área sob pico secundário obtido com a *Solução (2)* não é maior que a área sob o pico principal da *Solução (3)* (0,2%). Apenas duas áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (2)*, avaliados isoladamente e excluindo os picos das impurezas A e B, podem apresentar área maior que a metade da área sob o pico principal da *Solução (3)* (0,1%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (2)*, exceto a da glibenclamida, não é maior que 2,5 vezes a sob o pico

principal, obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,25 vezes a área sob o pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por seis horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 100 mL de álcool etílico aquecido, previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizando fenolftaleína SI como indicador. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 49,400 mg de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 3,0: dissolver 1,36 g de fosfato de potássio monobásico em 900 mL de água, ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico SR e diluir para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 3,0* e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 22 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, com tampão fosfato pH 7,3 até concentração de 5,5 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 22 mg de glibenclamida SQR para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir com tampão fosfato pH 7,3 até concentração de 5,5 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em local fresco.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hipoglicemiante oral.

GLIBENCLAMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Misturar em gral quantidade do pó equivalente a 20 mg de glibenclamida com 20 mL de mistura de cloreto de metileno e acetona (2:1). Filtrar, evaporar o filtrado até secura, à temperatura ambiente, e dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de glibenclamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de glibenclamida para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico 0,5 *M* e agitar. Adicionar 100 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e agitar mecanicamente por mais 15 minutos. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução obtida, na faixa de 230 nm a 350 nm, há máximos em 275 nm e 300 nm.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 25 mL. Adicionar 2,5 mL de água e aguardar a desintegração total do comprimido. Adicionar 15 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Nota: *antes do teste, o meio de dissolução deve ser aquecido a 41 ºC e desaerado, utilizando sistema de filtração sob vácuo, com agitação vigorosa. Manter a agitação por cerca de cinco minutos após o término da filtração no sistema, ainda sob vácuo. Filtrar as alíquotas do meio de dissolução utilizando membrana com porosidade de 0,45 µm, compatível com o meio de dissolução.*

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 7,3; 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 3,0: dissolver 1,36 g de fosfato de potássio monobásico em 900 mL de água, ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico e diluir para 1 000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 3,0* e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 22 mg de glibenclamida SQR para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, com tampão fosfato pH 7,3 até concentração de 5,5 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, cicloexano, álcool etílico e ácido acético glacial (45:45:5:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar em gral quantidade do pó equivalente a 40 mg de glibenclamida com 20 mL de mistura de cloreto de metileno e acetona (2:1) e filtrar. Evaporar o filtrado até secura, em temperatura não excedente a 40 ºC, sob pressão reduzida. Dissolver o resíduo em 4 mL de mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Solução (2): solução a 0,24 mg/mL de glibenclamida SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Solução (3): solução a 10 mg/mL de glibenclamida SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (2,4%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 300 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 3,0: dissolver 1,36 g de fosfato de potássio monobásico em 900 mL de água, ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico e diluir para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 3,0* e acetonitrila (47:53).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir, quantitativamente, quantidade do pó equivalente a cerca de 5 mg de glibenclamida para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de mistura de álcool metílico e água (10:1) e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 20 mg de glibenclamida SQR para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de mistura de álcool metílico e água (10:1) e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

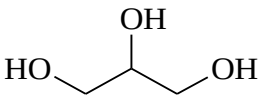
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

GLICEROL
Glycerolum



$C_3H_8O_3$; 92,09
glicerol; 04469
1,2,3-Propanotriol
[*56-81-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_3H_8O_3$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido xaroposo, incolor ou quase incolor, límpido, higroscópico.

Solubilidade. Miscível com água e com álcool etílico, praticamente insolúvel em benzeno, clorofórmio, éter de petróleo, óleos graxos e óleos essenciais.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 1,25 a 1,26.

IDENTIFICAÇÃO

Misturar 1 mL da amostra e 0,5 mL de ácido nítrico. Acrescentar 0,5 mL de dicromato de potássio a 10,6% (p/v). Na superfície de contato, desenvolve-se um anel azul que, por 10 minutos, não se difunde na camada inferior.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Diluir 25 g da amostra para 50 mL com água isenta de dióxido de carbono. A preparação é límpida **(5.2.25)**. Diluir 10 mL da solução obtida para 25 mL com água. A preparação é incolor **(5.2.12)**.

Limite de compostos clorados. Em balão de fundo redondo adaptado a condensador, acrescentar 5 g da amostra e 15 mL de morfolina. Aquecer, suavemente, sob refluxo, por três horas. Lavar o condensador com 10 mL de água. Recolher a água de lavagem no balão. Transferir para tubo de Nessler. Acidificar com ácido nítrico R, acrescentar 0,5 mL de nitrato de prata 0,5 *M* e diluir para 50 mL com água. Agitar. Preparar padrão, em tubo de Nessler, utilizando 15 mL de morfolina, 10 mL de água e 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Prosseguir conforme descrito para a preparação amostra a partir de "Acidificar...". Qualquer turvação desenvolvida na preparação amostra não é mais intensa que aquela obtida com a preparação padrão. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Acroleína, glicose e compostos amoniacais. Misturar 5 mL da amostra e 5 mL de hidróxido de potássio 10% (p/v). Aquecer a 60 ºC por cinco minutos. Não se desprendem vapores de amônia. Não se desenvolve coloração amarela.

Outras substâncias redutoras. Misturar 5 mL de amostra com 5 mL de hidróxido de amônio a 10% (p/v) e aquecer a 60 ºC por cinco minutos. Adicionar, rapidamente, 0,5 mL de nitrato de prata 0,1 *M*, mantendo a ponta da pipeta acima do tubo, fazendo a solução cair diretamente sobre a solução sem tocar as paredes do tubo. Agitar e manter em local escuro por cinco minutos. Não ocorre escurecimento da solução.

Ácidos graxos e ésteres. Misturar 50 g da amostra com 100 mL de água quente, recentemente fervida. Adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e neutralizar com ácido sulfúrico 0,1 *M*. Adicionar 15 mL de hidróxido de sódio 0,2 *M*. Aquecer sob refluxo, por cinco minutos, esfriar e titular com ácido sulfúrico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco utilizando 140 mL de água, recentemente fervida. A diferença entre as titulações é, no máximo, 1,6 mL.

Sacarose. A 4 mL da amostra adicionar 6 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M*. Aquecer por um minuto, esfriar e neutralizar com hidróxido de sódio SR, utilizando papel de tornassol como indicador. Adicionar 5 mL de tartarato cúprico alcalino SR e aquecer à ebulição por um minuto. Não ocorre formação de precipitado vermelho-alaranjado.

Cloretos. A 10 mL de solução da amostra a 10% (p/v) adicionar 0,25 mL de ácido nítrico SR e 0,5 mL de nitrato de prata 0,1 *M*. Agitar. Não ocorre turvação.

Sulfatos. A 10 mL de solução da amostra a 10% (p/v) adicionar três gotas de ácido clorídrico SR e cinco gotas de cloreto de bário SR. Não ocorre turvação.

Arsênio (5.3.2.5). Proceder conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,00015% (1,5 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Misturar 4 g da amostra com 2 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e diluir com água para 25 mL. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 5 g da amostra. No máximo, 0,01%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e dissolver em 45 mL de água. Adicionar 25 mL de mistura de ácido sulfúrico 0,1 *M* e periodato de sódio a 2,14% (p/v) (1:20) e deixar em repouso por 15 minutos, protegido da luz. Adicionar 5 mL de etilenoglicol a 50% (p/v) e deixar em repouso por 20 minutos, protegido da luz. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizando 0,5 mL de fenolftaleína SI. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 9,209 mg de $C_3H_8O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Umectante, solvente.

GLICEROL SUPOSITÓRIOS

Contém, no mínimo, 75,0% e, no máximo, 90,0% da quantidade declarada de $C_3H_8O_3$. Contém estearato de sódio.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver, sob aquecimento, 12 supositórios em 125 mL de água. Esfriar, adicionar 1,5 mL de ácido clorídrico e transferir a mistura para um funil de separação de 250 mL. Extrair com 75 mL de hexano, descartar a camada aquosa e recolher a camada orgânica em um béquer. Evaporar em banho-maria até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14),** do resíduo disperso em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido esteárico SQR preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 1 g de borato de sódio decaidratado em 100 mL de água, adicionar 25 gotas de fenolftaleína SI e homogeneizar. Em um tubo de ensaio contendo 0,5 mL dessa solução, adicionar duas gotas de um supositório previamente fundido. A cor rosa intensa é completamente descorada. Quando a solução é aquecida, a coloração rosa reaparece.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 15,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar quantidade de supositórios equivalente a 0,25 g de glicerina, dissolver em água, completar o volume para 250 mL e filtrar. Transferir 5 mL dessa solução para erlenmeyer, adicionar 50 mL de um reagente preparado pela mistura de 40 mL ácido sulfúrico a 5% (v/v) e 60 mL de periodato de potássio a 0,1% (p/v) acidificado com três a cinco gotas de ácido sulfúrico. Aquecer a solução em banho-maria durante 15 minutos, resfriar à temperatura ambiente e adicionar 1 g de iodeto de potássio. Deixar em repouso durante cinco minutos. Titular com o tiossulfato de sódio 0,02 *M* SV, utilizando amido SI como indicador, que deve ser adicionado bem próximo ao ponto de viragem. Realizar ensaio em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,02 *M* SV equivale a 0,4605 mg de $C_3H_8O_3$.

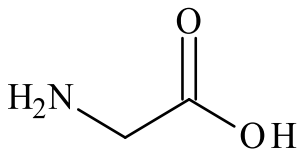
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos e opacos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

GLICINA
Glycinum



$C_2H_5NO_2$; 75,07
glicina; 04472
Glicina
[*56-40-6*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_2H_5NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 232 °C a 236 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

O espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada a 105 ºC, por duas horas, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da glicina SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos se apresentarem diferentes, dissolver separadamente a amostra e a SQR em mínima quantidade de álcool etílico 60% v/v, evaporar à secura e obter novos espectros.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 25 ºC, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 1,4 g de pentanossulfonato de sódio em 900 mL de água, ajustar o pH a 2,2 com ácido fosfórico e diluir até um litro com água.

Diluente: diluir 1,5 mL de ácido fosfórico em 500 mL da *Fase móvel*.

Solução (1): dissolver 200 mg da amostra em *Diluente* e diluir a 20 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da solução amostra para 100 mL com *Diluente*. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com *Diluente*.

Solução (3): dissolver 80 mg de ácido iminodiacético (impureza A, ácido 2,2'-iminodiacético) e 80 mg da amostra em *Diluente* e diluir a 50 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver 50 mg de anidrido glicínico (impureza B, piperazina-2,5-diona), 50 mg de diglicina (impureza H, ácido 2-[(2-aminoacetil)amino]acético) e 50 mg de triglicina (impureza I, ácido 2-[[2[(aminoacetil)amino]acetil]amino]acético) em *Diluente* e diluir a 50 mL com o mesmo solvente. Diluir 1 mL desta solução para 100 mL com *Diluente*.

Injetar, separadamente, réplicas de 10 µL das *Soluções (3)* e *(4)*. O tempo de retenção da glicina é cerca de 5,5 minutos. Os tempos de retenção relativos à glicina são cerca de 0,7 para impureza A, cerca de 0,75 para impureza B, cerca de 1,7 para impureza H e cerca de 2,0 para impureza I. A resolução entre os picos de impureza A e glicina é, no mínimo, 5,0.

Procedimento: injetar replicatas de 10 µL da *Soluções (1), (2) e (4)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob todos os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* não é maior que o dobro da área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,20%). As áreas sob os picos das impurezas B, H e I no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não são maiores que as áreas sob os respectivos picos no cromatograma obtido com a *Solução (4)* (0,10% para cada impureza). A área sob o pico de qualquer outra impureza não especificada no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,10%). Desconsiderar quaisquer picos com áreas iguais ou menores que 0,5 vez a área sob o pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Aspecto da preparação. A solução a 10% (p/v) em água recentemente fervida e resfriada é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Cloretos (5.3.2.1). Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. Determinar em 5 g de amostra. No máximo 0,007% (70 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Preparar 20 mL de uma solução a 10% (p/v) da amostra em água e proceder conforme *Ensaio limite para metais pesados.* Utilizar *Solução padrão de chumbo (1 ppm Pb)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2.). Dissolver 4 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*, utilizando 0,65 mL da solução padrão de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo 0,0065% (65 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo 0,2%.

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

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da amostra e dissolver em 100 mL de ácido acético glacial, aquecer brandamente para facilitar a solubilização. Adicionar duas gotas de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até mudança de cor de azul para azul-esverdeado. Proceder a um ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 7,507 mg de $C_2H_5NO_2$

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

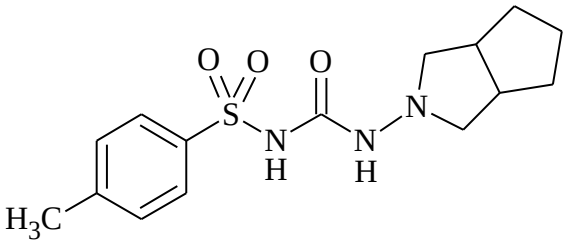
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Aminoácido não essencial.

GLICLAZIDA

Gliclazidum



$C_{15}H_{21}N_3O_3S$; 323,41
gliclazida; 04474
N-[[(Hexaidrociclopenta[*c*]pirrol-2(1*H*)-il)amino]carbonil]-4-metilbenzenossulfonamida
[*21187-98-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de gliclazida SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Preparar as soluções no momento do uso. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de trietilamina, ácido trifluoracético, acetonitrila e água (0,1:0,1:45:55).

Solução (1): dissolver, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra em 23 mL de acetonitrila e diluir para 50 mL com água.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com mistura de acetonitrila e água (45:55). Diluir 10 mL da solução resultante para 100 mL com o mesmo diluente.

Solução (3): dissolver, quantitativamente, cerca de 5 mg da amostra e 15 mg de 1-(hexahidrociclopenta[*c*]pirol-2(1*H*)-il)-3-[(2-metilfenil)sulfonil]ureia SQR em 23 mL de acetonitrila e diluir para 50 mL com água. Diluir 5 mL da solução resultante para 100 mL com mistura de acetonitrila e água (45:55).

Solução (4): dissolver, quantitativamente, cerca de 10 mg de 1-(hexahidrociclopenta[*c*]pirol-2(1*H*)-il)-3-[(2-metilfenil) sulfonil]ureia SQR em 45 mL de acetonitrila e diluir para 100 mL com água. Diluir 1 mL da solução resultante para 100 mL com mistura de acetonitrila e água (45:55).

Injetar 20 µL da *Solução (3)*. A resolução entre os picos de 1-(hexahidrociclopenta[*c*]pirol-2(1*H*)-il)-3-[(2-metilfenil) sulfonil]ureia e de gliclazida é, no mínimo, 1,8.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das soluções *(1)*, *(2)* e *(4)*. Registrar os cromatogramas da *Solução (1)* por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção da gliclazida e medir as áreas sob os picos. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, a área sob o pico de 1-(hexahidrociclopenta[*c*] pirol-2(1*H*)-il)-3-[(2-metilfenil) sulfonil]ureia não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (4)* (0,1%). As áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico principal e sob o pico de 1-(hexahidrociclopenta[*c*]pirol-2(1*H*)-il)-3-[(2-metilfenil) sulfonil]ureia, não são maiores do que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico principal e sob o pico de 1-(hexahidrociclopenta[*c*]pirol-2(1*H*)-il)-3-[(2-metilfenil) sulfonil]ureia, não é maior que duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). Não considerar picos com área inferior a 0,2 vezes a sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (0,02%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo, 0,001% (10 ppm). Preparar a solução padrão de chumbo na concentração de 10 ppm de Pb.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 °C e 105 °C, por duas horas. No máximo, 0,25%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra, previamente dessecada, e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 32,341 mg de $C_{15}H_{21}N_3O_3S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

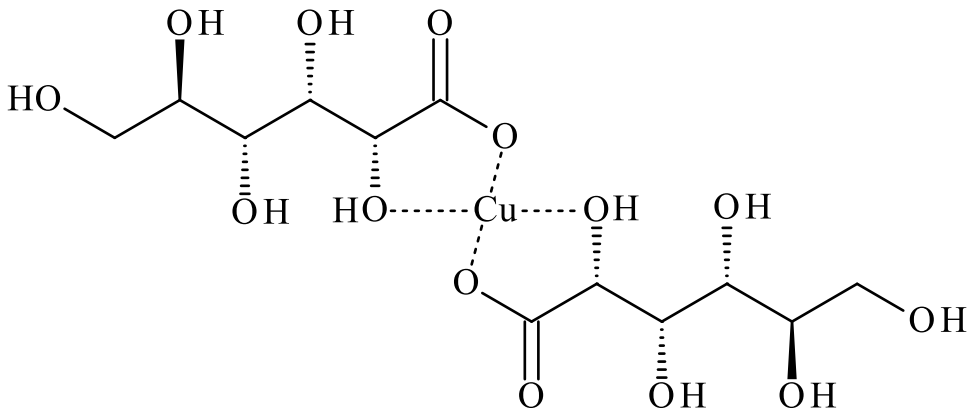
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidiabético oral.

GLICONATO DE COBRE

Cupri gluconas



$C_{12}H_{22}CuO_{14}$; 453,84
gliconato de cobre; 04479
Bis(D-gliconato-κO1,κO2)-cobre
[*527-09-3*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_{22}CuO_{14}$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, azul-esverdeado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e insolúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 155 °C a 157 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder como descrito em *Cromatografia em camada delgada* (**5.2.17.1**), utilizando sílica-gel como suporte, e mistura de álcool, acetato de etila, hidróxido de amônio e água (50:10:10:30), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): solução da amostra a 10 mg/mL em água, aquecendo a 60 °C em banho-maria, se necessário.

Solução (2): solução de gliconato de potássio a 10 mg/mL.

Revelador: dissolver 2,5 g de molibdato de amônio em 50 mL de ácido sulfúrico *M* em balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1,0 g de sulfato cérico, agitar para dissolver e completar o volume com ácido sulfúrico *M*.

Desenvolver o cromatograma e deixar a fase móvel percorrer três quartos do comprimento da placa. Remover a placa, secar a 110 ºC por 20 minutos. Resfriar, nebulizar com o *Revelador* e aquecer a 110 ºC durante 10 minutos. A mancha principal da *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. A 5 mL de solução aquosa ligeiramente aquecida de gliconato de cobre a 10%, adicionar 0,7 mL de ácido acético glacial e 1 mL fenilhidrazina recém destilada. Aquecer em banho-maria por 30 minutos e esfriar. Ao raspar um bastão de vidro pelas paredes internas do tubo formam-se pequenos cristais precipitados.

C. Satisfaz às reações do íon cobre **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de substâncias redutoras. Pesar 1 g da amostra, dissolver em 10 mL de água e adicionar 25 mL de citrato cúprico alcalino SR. Tampar o frasco, ferver brandamente por cinco minutos e resfriar rapidamente à temperatura ambiente. Adicionar 25 mL de ácido acético 0,6 *M*, 10 mL de iodo 0,1 *M* SV e 10 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, adicionar 3 mL de amido SI próximo ao ponto final. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL da solução de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a a 2,7 mg de substâncias redutoras (expressas como dextrose). No máximo, 1,0%.

Chumbo. Proceder conforme descrito no *Método II* de *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1.4).** Utilizar espectrofotômetro provido de forno de grafite, lâmpada de catodo oco de chumbo e selecionar a linha de emissão em 283,3 nm. Utilizar a seguinte programação de temperatura, com fluxo de argônio de três litros por minuto, 70 °C por 10 segundos, 90 °C por 60 segundos, 120 °C por 15 segundos, 250 °C por cinco segundos (sem fluxo de gás), 250 °C por 10 segundos, 250 °C por dois segundos (sem fluxo de gás), e 2000 °C por 3,2 segundos.

Solução padrão: transferir 10 mL de chumbo SRA para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 40 mL de água e 5 mL de ácido nítrico. Completar o volume com água e misturar. Transferir 0,4 mL desta solução para um segundo balão volumétrico. Adicionar 50 mL de água e 1 mL de ácido nítrico. Completar o volume com água e misturar. Esta solução contém 0,04 µg/mL de chumbo.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 4 g de gliconato de cobre para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de água e 5 mL de ácido nítrico. Colocar em banho de ultrassom até dissolver a substância. Completar o volume com água e misturar. Transferir 4 mL desta solução para um segundo balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de água e 1 mL de ácido nítrico. Completar o volume com água e misturar.

Solução branco: transferir 1,2 mL de ácido nítrico para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e misturar.

Preparar soluções analíticas a partir da *Solução amostra*, da *Solução padrão* e da *Solução branco* nas seguintes proporções, em volume: 10:0:10 (0 µg/mL de chumbo); 10:4:6 (0,008 µg/mL de chumbo); 10:7:3 (0,014 µg/mL de chumbo) e 10:10:0 (0,020 µg/mL de chumbo). Injetar, separadamente, 20 µL da solução branco e das soluções analíticas. Determinar a absorvância à temperatura de 2000 °C. Calcular a concentração de chumbo na *Solução amostra*. No máximo, 25 ppm.

Arsênio (5.3.2.5). Pesar 1 g de amostra e proceder conforme o *Método I* do *Ensaio limite para arsênio*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 0,5 g da amostra em 40 mL de água fervente e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo, 0,07% (700 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 2,4 g da amostra em 40 mL de água fervente e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,05% (500 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1,5 g da amostra e dissolver em 100 mL de água. Adicionar 2 mL de ácido acético glacial e 5 g de iodeto de potássio. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV até formação de coloração amarelo-clara. Adicionar 2 g de tiocianato de amônio. Misturar e adicionar 3 mL de amido SI. Continuar a titulação até mudança de cor. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a 45,384 mg de $C_{12}H_{22}CuO_{14}$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

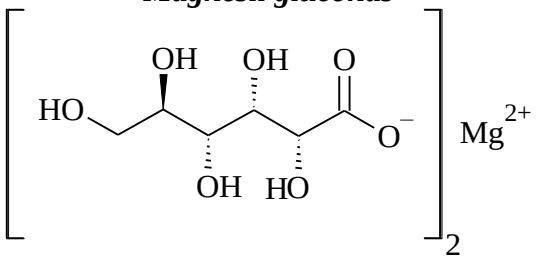
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento alimentar.

GLICONATO DE MAGNÉSIO

Magnesii gluconas



$C_{12}H_{22}MgO_{14}$; 414,60
gliconato de magnésio; 04480
Sal de magnésio do ácido D-glicônico (1:2)
[*3632-91-5*]

$C_{12}H_{22}MgO_{14}.2H_2O$; 450,63
gliconato de magnésio di-hidratado; 11388
Sal de magnésio do ácido D-glicônico hidratado (1:2:2)
[*59625-89-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_{22}MgO_{14}$ em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou grânulo branco ou cristais incolores; higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder como descrito em *Cromatografia em camada delgada* (**5.2.17.1**), utilizando sílica-gel como suporte, e mistura de álcool, acetato de etila, hidróxido de amônio e água (50:10:10:30), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): solução da amostra a 10 mg/mL em água, aquecendo a 60 °C em banho-maria, se necessário.

Solução (2): solução de gliconato de potássio a 10 mg/mL.

Revelador: dissolver 2,5 g de molibdato de amônio em 50 mL de ácido sulfúrico *M* em balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1,0 g de sulfato cérico, agitar para dissolver e completar o volume com ácido sulfúrico *M*.

Desenvolver o cromatograma e deixar a fase móvel percorrer três quartos do comprimento da placa. Remover a placa, secar a 110 ºC por 20 minutos. Resfriar, nebulizar com o *Revelador* e aquecer a 110 ºC durante 10 minutos. A mancha principal da *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. A 5 mL de solução aquosa morna de gliconato de magnésio a 10% adicionar 0,7 mL de ácido acético glacial e 1 mL fenilhidrazina recém destilada. Aquecer em banho-maria por 30 minutos e esfriar. Ao raspar um bastão de vidro pelas paredes internas do tubo, formam-se pequenos cristais precipitados.

C. Satisfaz às reações do íon magnésio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 7,8. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Limite de substâncias redutoras. Pesar, com exatidão, 1 g da amostra, dissolver em 20 mL de água quente, resfriar e adicionar 25 mL de citrato cúprico alcalino SR. Tampar o frasco, ferver, brandamente, por cinco minutos e resfriar rapidamente à temperatura ambiente. Adicionar 25 mL de ácido acético 2 *M*, 10 mL de iodo 0,1 *M* SV e 10 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, adicionar 3 mL de amido SR próximo ao ponto final. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL da solução de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a a 2,7 mg de substâncias redutoras (expressas como dextrose). No máximo, 1,0%.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar *Método II*. Dissolver 1,0 g de amostra em 35 mL de água. Proceder conforme *Ensaio limite para arsênio*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Pesar 0,7 g de amostra e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. Dissolver 1,0 g da amostra em 10 mL de água, adicionar 6 mL de ácido clorídrico 3,0 *M* e completar com água para o volume de 25 mL. Proceder conforme *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 2,4 g da amostra em 40 mL de água fervente e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Água (5.2.20.1). Utilizar o *Método indireto*. No máximo, 12,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 800 mg da amostra e dissolver em 20 mL de água. Adicionar 5 mL de cloreto de amônio SR e 0,1 mL de negro de eriocromo T SI. Titular com edetato dissódico 0,05 *M* SV até mudança de coloração para azul. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* equivale a 20,730 mg de $C_{12}H_{22}MgO_{14}$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

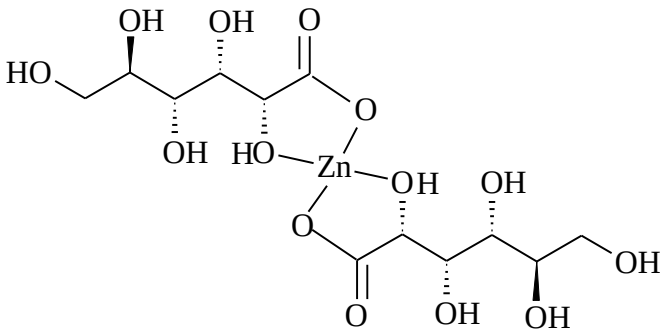
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento alimentar.

GLICONATO DE ZINCO

Zinci gluconas



$C_{12}H_{22}O_{14}Zn$; 455,68
gliconato de zinco; 09453
(T-4)-Bis(D-gliconato-κO^1,κO^2)-zinco
[*4468-02-4*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_{22}O_{14}Zn$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, cristalino ou granuloso.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Satisfaz às reações do íon zinco **(5.3.1.1)**. Realizar os testes 1 e 2.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,5 a 7,5. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Limite de impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, 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 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fase estacionária ligada a 5% de fenilpolisiloxano e 95% a metilpolisiloxano, com espessura do filme de 5 µm; temperatura da coluna de 35 °C a 260 °C (35 °C mantida durante cinco minutos, aumentada a 175 °C a 8 °C por minuto, aumentada a 260 °C a 35 °C por minuto e mantida à esta temperatura por pelo menos 16 minutos), temperatura do injetor de 70 °C e temperatura do detector de 260 °C; utilizar hélio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1,0 mL/minuto.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra e dissolver em 50 mL de água, isenta de compostos orgânicos.

Solução padrão: preparar uma solução, em água isenta de compostos orgânicos, contendo em cada mL, 10 µg de cloreto de metileno, 1 µg de clorofórmio, 2 µg de benzeno, 2 µg de dioxana e 2 µg de tricloroetileno.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* no cromatógrafo a gás. Obter os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Identificar, baseado no tempo de retenção, qualquer pico presente no cromatograma da *Solução amostra*. A presença e a identificação dos picos no cromatograma devem ser estabelecidas comparando os cromatogramas da *Solução amostra* e da *Solução padrão*. No máximo, 2 ppm de benzeno, 50 ppm de clorofórmio, 100 ppm de dioxana, 500 ppm de cloreto de metileno e 80 ppm de tricloroetileno.

Limite de substâncias redutoras. Pesar 1 g da amostra em erlenmeyer de 250 mL, dissolver em 10 mL de água e adicionar 25 mL de citrato cúprico alcalino SR. Tampar o erlenmeyer, ferver suavemente por cinco minutos e resfriar rapidamente à temperatura ambiente. Adicionar 25 mL de ácido acético 6 *M*, 10 mL de iodo 0,1 *M* SV e 10 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, adicionando 3 mL de amido SR próximo ao ponto final. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a 2,7 mg de substâncias redutoras (expressas como dextrose). No máximo, 1,0%.

Cádmio. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.2)**. Utilizar o *Método II*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de cádmio e selecionar a linha de emissão em 228,8 nm.

Solução amostra: dissolver 10 g da amostra em 50 mL de água.

Solução padrão: transferir 137,2 mg de nitrato de cádmio para balão volumétrico de 1000 mL, dissolver com água e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 25 mL da solução anterior e 1 mL de ácido clorídrico para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. Esta solução contém 12,5 µg/mL de cádmio.

Procedimento: Utilizar três balões volumétricos de 25 mL. Ao primeiro, não será adicionada a *Solução padrão*. Adicionar2 mL e 4 mL da *Solução padrão* aos outros dois balões. Em cada balão, adicionar 5 mL da *Solução amostra*, completar com água e misturar. Estas soluções contêm, respectivamente, 0 µg/mL; 1 µg/mL e 2 µg/mL de cádmio proveniente da *Solução padrão*. Plotar os valores de absorvância da *Solução amostra versus* concentração de cádmio, em µg/mL, das *Soluções padrão*, obter a reta que melhor se ajuste aos três pontos e extrapolar a reta até interceptar o eixo da concentração. A partir do intercepto, determinar a quantidade, em µg, de cádmio em cada mL da *Solução amostra* (aquela á qual não foi adicionada a *Solução padrão*). Preparar branco em paralelo utilizando água. Calcular a quantidade, em ppm, de cádmio a partir das leituras obtidas. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Chumbo. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.2)**. Utilizar o *Método I*. Utilizar espectrofotômetro provido de chama alimentada com mistura de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de chumbo e selecionar a linha de emissão em 283,3 nm.

Solução de ácido ascórbico-iodeto de sódio: em um balão volumétrico de 200 mL, dissolver 20 g de ácido ascórbico e 38,5 g de iodeto de sódio em água. Completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar.

Solução de óxido de trioctilfosfina: em um balão volumétrico de 100 mL, dissolver 5 g de óxido de trioctilfosfina em metilisobutilcetona. Completar com o mesmo diluente e homogeneizar. ***Nota:*** *Cuidado! Essa solução pode causar irritação nos olhos e na pele!*

Solução padrão: transferir 5 mL de *Solução estoque de nitrato de chumbo* **(5.3.2.3)** para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Para um balão volumétrico de 50 mL,

transferir 2 mL da solução anterior, 10 mL de ácido clorídrico 9 *M*, 20 mL da *Solução de ácido ascórbico-iodeto de sódio* e 5 mL de *Solução de óxido de trioctilfosfina*. Agitar durante 30 segundos e deixar em repouso para separar as fases. Completar o volume com água para trazer a fase orgânica para a parte superior do frasco, transferir para um funil de separação, deixar separar as fases e proceder a separação. A fase orgânica é a que contém a *Solução padrão* (2,0 μg/mL).

Solução amostra: para um frasco de 50 mL, transferir 1 g de gliconato de zinco, 10 mL de ácido clorídrico, aproximadamente 10 mL de água, 20 mL de *Solução de ácido ascórbico-iodeto de sódio* e 5 mL de *Solução de óxido de trioctilfosfina*. Agitar durante 30 segundos e deixar separar as fases. Adicionar água para trazer a fase orgânica para a parte superior do frasco, transferir para um funil de separação. Agitar novamente e proceder à separação. A fase orgânica é a que contém a amostra a ser analisada.

Solução branco: para balão volumétrico de 50 mL, transferir 10 mL de ácido clorídrico 9 *M*, 20 mL da *Solução de ácido ascórbico-iodeto de sódio* e 5 mL de *Solução de óxido de trioctilfosfina*. Agitar durante 30 segundos e deixar em repouso para separar as fases. Completar o volume com água para trazer a fase orgânica para a parte superior do frasco, deixar separar as fases e proceder a separação. A fase orgânica é a que contém o branco.

Procedimento: medir as absorvâncias da *Solução padrão,* da *Solução amostra* e da *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade, em ppm, de chumbo a partir das leituras obtidas. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Pesar 1 g de amostra e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para arsênio*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 0,7 g da amostra em 40 mL de água fervente e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo, 0,05% (500 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 2,4 g da amostra em 40 mL de água fervente e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Água (5.2.20.1). Utilizar o *Método indireto*. No máximo, 11,6%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,7 g da amostra e dissolver em 100 mL de água. Adicionar cerca de 5 mL de tampão cloreto de amônio pH 10,7 e 0,1 mL de negro de eriocromo T SI e titular com edetato dissódico 0,05 *M* SV. Titular até formação de coloração azul, correspondente ao ponto final da titulação. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 22,784 mg de $C_{12}H_{22}O_{14}Zn$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

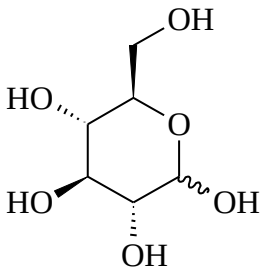
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento alimentar.

GLICOSE
Glucosum



$C_6H_{12}O_6$; 180,16
glicose; 04485
D-Glicose
[*50-99-7*]

$C_6H_{12}O_6.H_2O$; 198,17
glicose monoidratada; 04486
α-D-Glicose monoidratada (1:1)
[*14431-43-7*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,5% de $C_6H_{12}O_6$ em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais incolores ou pó cristalino branco, inodoro, de sabor adocicado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +52,5 a +53,5, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 10% (p/v) em hidróxido de amônio 0,012 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool *n*-propílico, acetato de etila e água (70:20:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

S*olução (1):* dissolver 0,1 g de amostra em água e completar o volume para 10 mL.

Solução (2): dissolver 0,1 g de glicose SQR em água e completar o volume para 10 mL.

Desenvolver o cromatograma, permitindo que a frente do solvente ascenda 17 cm acima da linha de aplicação, remover a placa da cuba e secar ao ar. Nebulizar com solução de periodato de sódio a 0,2% (p/v). Secar a placa ao ar por 15 minutos e nebulizar com solução de 4,4-metilenobis-*N*,*N*-dimetilanilina a 2% (p/v) em mistura de 20 volumes de ácido acético glacial e 80 volumes de acetona. A mancha principal obtida no cromatograma da S*olução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida no cromatograma da *Solução (2)*.

B. Dissolver 0,1 g da amostra em 10 mL de água. Adicionar 3 mL de tartarato cúprico alcalino SR e aquecer. Produz-se precipitado vermelho.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da solução. Dissolver 12,5 g da amostra em água e completar o volume para 25 mL. A solução obtida não é mais intensamente colorida **(5.2.12)** que solução preparada pela mistura de 1 mL de cloreto cobaltoso SR, 3 mL de cloreto férrico SR e 2 mL de sulfato cúprico SR em água suficiente para 10 mL, diluindo-se, em seguida, 1,5 mL dessa solução com água para obter 25 mL. Fazer a comparação sobre fundo branco em tubos de Nessler.

Acidez. Dissolver 5 g da amostra em 50 mL de água isenta de dióxido de carbono, adicionar fenolftaleína SI e titular com hidróxido de sódio 0,02 *M* SV até coloração rósea. No máximo, 0,3 mL do titulante é gasto para neutralização.

Amido solúvel e sulfitos. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água e adicionar uma gota de iodo 0,1 *M* SV. A solução torna-se amarelada e não desenvolve coloração azul.

Dextrinas e açúcares menos solúveis. Dissolver 1 g da amostra pulverizada em 30 mL de álcool etílico a 90% (v/v) e aquecer, sob agitação, em balão provido de coluna de refluxo. Após resfriamento, a preparação permanece límpida.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 3 g de amostra. No máximo, 0,0001% (1 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 2 g de amostra. No máximo, 0,018% (180 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Realizar o ensaio em 4 g de amostra. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 2 g de amostra. Para a *Preparação padrão* utilizar 1 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo, 0,025% (250 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo, 1,0% para a glicose anidra e entre 7,0% e 9,5% para a glicose monoidratada.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e dissolver em 50 mL de água, em erlenmeyer com tampa esmerilhada. Adicionar 25 mL de iodo 0,05 *M* SV e 10 mL de solução de carbonato de sódio a 5% (p/v). Homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos, protegido da luz. Adicionar 15 mL de ácido clorídrico diluído e titular o excesso de iodo com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, usando amido SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 9,008 mg de $C_6H_{12}O_6$ e a 9,909 mg de $C_6H_{12}O_6.H_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adoçante, energético, excipiente.

GLICOSE SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_6H_{12}O_6$. A solução injetável de glicose é uma solução estéril e incolor de glicose anidra ou de glicose monoidratada em água para injetáveis. Não contém agentes antimicrobianos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Aquecer uma porção da solução injetável com tartarato cúprico alcalino SR. Forma-se precipitado vermelho.

B. A solução obtida em *Doseamento* é dextrógira **(5.2.8)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

Contaminação por partículas (5.1.7). Utilizar o *Método I* de *Partículas sub-visíveis* **(5.1.7.1).** Cumpre o *Teste A* ou o *Teste B*, conforme o volume dos recipientes.

pH (5.2.19). 3,2 a 6,5. Determinar em solução contendo o equivalente a 5% (p/v) de $C_6H_{12}O_6$. Diluir a amostra com água para injetáveis, se necessário. Adicionar 0,3 mL de solução saturada de cloreto de potássio para cada 100 mL de solução.

ENSAIOS DE PUREZA

5-Hidroximetilfurfural e substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Diluir volume da solução injetável contendo o equivalente a 1 g de $C_6H_{12}O_6$ para 250 mL com água. A absorvância em 284 nm é, no máximo, 0,25.

Metais pesados (5.3.2.3). Transferir volume da solução injetável equivalente a 4 g de glicose para um recipiente adequado e ajustar o volume para 25 mL por evaporação ou adição de água, conforme necessário. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,25 UE/mL de solução injetável. Diluir em água para injetáveis, se necessário, até concentração de 5% (p/v) de $C_6H_{12}O_6$.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Determinação da rotação óptica e da rotação óptica específica* **(5.2.8).** Transferir, quantitativamente, volume da solução injetável contendo entre 2 g e 5 g de $C_6H_{12}O_6$ para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 0,2 mL de amônia 5 *M* e completar o volume com água. Homogeneizar e deixar em repouso por 30 minutos. Determinar a rotação óptica em tubo de 2 dm. O ângulo de rotação obtido, multiplicado por 0,9477, representa a massa, em gramas, de $C_6H_{12}O_6$ presente no volume utilizado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

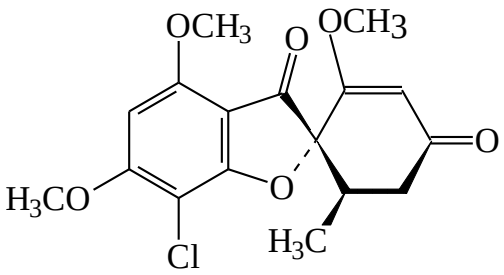
Em recipientes bem fechados, de dose única, de plástico ou de vidro, preferencialmente do tipo I ou II.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

GRISEOFULVINA

Griseofulvinum



$C_{17}H_{17}ClO_6$; 352,77
griseofulvina; 04536
Spiro[benzofuran-[2](3*H*), 1´-2ciclohexeno]-3,4´-diona, 7-cloro-2,4,6trimetoxi-6´-metil-, (1´*S*-*trans*)-7-cloro-2´,4,6-trimetoxi-6β´-metilspiro(benzofuran-2(3*H*), 1´-[2]ciclohexeno]-3,4´diona
[*126-07-8*]

Apresenta potência de, no mínimo, 900 µg de $C_{17}H_{17}ClO_6$ por miligrama.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 217 ºC a 224 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +348 a +364. Determinar em solução a 1% (p/v) em dimetilformamida.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de griseofulvina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método III*. No máximo, 0,0025% (25 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,2%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,08 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver, completar o volume com álcool etílico e homogeneizar. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração de 0,008% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{17}H_{17}ClO_6$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), fluxo da *Fase móvel* de 1,6 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (60:40).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, dissolver utilizando 15 mL de álcool metílico, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir, dessa solução, 2 mL para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de griseofulvina SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{17}ClO_6$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

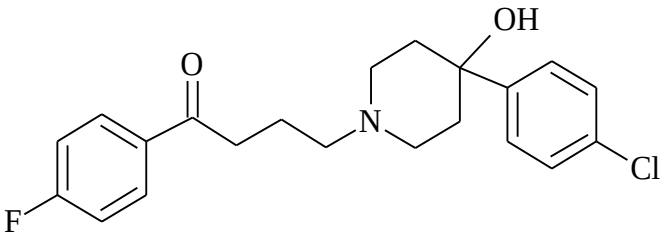
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

HALOPERIDOL

Haloperidolum



$C_{21}H_{23}ClFNO_2$; 375,87
haloperidol; 04589
4-[4-(4-Clorofenil)-4-hidroxi-1-piperidinil]-1-(4-fluorfenil)-1-butanona
[*52-86-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, microcristalino ou amorfo.

Solubilidade. Insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico e pouco solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em ácidos diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 148 ºC a 151 ºC. Determinar em amostra dessecada em estufa a 105 ºC, por uma hora.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada a 105 °C e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de haloperidol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,2 g da amostra em 20 mL de ácido láctico a 1% (v/v). Deixar em banho de ultrassom, se necessário, até completa dissolução. A preparação é límpida **(5.2.25)** e não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC F* **(5.2.12)** diluída a 2,5% (v/v) em água.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (**5.2.17.4**). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm), fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Eluente A: solução aquosa de hidrogenosulfato de tetrabutilamônio a 17 g/L.

Eluente B: acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 2	90	10	isocrática
2 – 17	90 → 50	10 → 50	gradiente linear
17 - 22	50	50	isocrática

Nota: *Preparar as soluções imediatamente antes do uso e protegê-las da luz.*

Solução (1): dissolver 100 mg da amostra em álcool metílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 10 mg de haloperidol para adequabilidade do sistema SQR (contendo as impurezas B, 4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxipiperidin-1-il]-1-(2-fluorofenil)butan-1-ona, e D, 4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxipiperidin-1-il]-1-[4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxipiperidin-1-il]fenil]butan-1-ona) em 1,0 mL de álcool metílico.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução amostra* para 100 mL com álcool metílico. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver 10 mg de haloperidol para identificação de picos SQR (contendo as impurezas G e H, estruturas indeterminadas) em 1 mL de álcool metílico.

Injetar, separadamente, replicatas de 10 µL da *Solução (2).* A resolução entre os picos de haloperidol e impureza B é, no mínimo, 3,0. Utilizar o cromatograma fornecido com haloperidol para adequabilidade do sistema SQR e o cromatograma obtido com a *Solução (2)* para identificar os picos das impurezas B e D; utilizar o cromatograma fornecido com haloperidol para identificação de picos SQR e o cromatograma obtido com a *Solução (4)* para identificar os picos das impurezas G e H. Os tempos de retenção relativos com referência ao haloperidol, cujo tempo de retenção é de cerca de oito minutos, são cerca de 0,9 para a impureza B, cerca de 1,6 para a impureza D, cerca de 1,8 para a impureza G e cerca de 2,0 para a impureza H.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (3)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Determinar a porcentagem de cada uma das impurezas encontradas na *Solução (1)* em relação à concentração de haloperidol na *Solução (3)*. Para o cálculo da impureza B, multiplicar a área sob o pico por 0,7. No máximo, 0,5% de impureza D, 0,3% de impureza B, 0,15% de impureza G e 0,15% de impureza H. No máximo, 0,1% para outras impurezas individuais. No máximo, 1,0% do total de impurezas encontradas. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,5 vezes a área sob o pico principal obtido no cromatograma com *Solução (3).*

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

Quando constar no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando constar que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 71,4 UE/mg de haloperidol.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra e dissolver em 30 mL de ácido acético glacial. Adicionar cinco gotas de 1-naftolbenzeína SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até mudança de cor de amarelo-alaranjada para verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 37,587 mg de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à 30 ºC; fluxo da fase móvel de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico, fosfato de potássio monobásico 0,05 *M*, tetraidrofurano e trietilamina (50:47:3:0,3). Ajustar o pH em 3,5 ± 0,1 com ácido fosfórico SR.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Fase móvel* de modo a obter solução a 10 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de haloperidol SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 10 μg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antipsicótico.

HALOPERIDOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de haloperidol para funil de separação, adicionar 10 mL de água e 1 mL de hidróxido de sódio *M*. Extrair com 10 mL de clorofórmio saturado com água. Filtrar e evaporar até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de haloperidol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 30 mL de álcool metílico a quente e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos, completar o volume com álcool metílico e filtrar. Diluir, se necessário, em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,002% (p/v). Preparar solução de haloperidol SQR na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 245 nm **(5.2.14)**, utilizar álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ em cada comprimido, a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: fluido gástrico simulado (sem enzima), 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* (60:40). Ajustar o pH da mistura para 4,0 ± 0,1 com ácido fosfórico ou hidróxido de sódio diluído.

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com meio de dissolução, de modo a obter solução de concentração aproximada de 1,11 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 27,75 mg de haloperidol SQR para balão volumétrico de 250 mL. Dissolver em 5 mL de álcool metílico, completar o volume com meio de dissolução e homogeneizar. Diluir essa solução, com meio de dissolução, de modo a obter solução de concentração aproximada de 1,11 µg/mL.

Injetar replicatas de 100 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 100 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio, ácido acético glacial e álcool metílico (80:10:10), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 10 mg de haloperidol com 10 mL de clorofórmio. Filtrar e evaporar o resíduo até secura. Dissolver o resíduo com 1 mL de clorofórmio.

Solução (2): diluir 0,25 mL da *Solução (1)* para 25 mL com clorofórmio.

Solução (3): diluir 5 mL da *Solução (2)* para 10 mL com clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e nebulizar com iodobismutato de potássio SR. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma da *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%) e somente uma é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à 30ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* (60:40). Ajustar o pH da mistura para 4,0 ± 0,1 com ácido fosfórico ou hidróxido de sódio diluído.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade da amostra equivalente a 5 mg de haloperidol para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 30 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 30 minutos. Agitar, mecanicamente, por 30 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de haloperidol SQR e transferir para balão volumétrico de 250 mL. Dissolver com 5 mL de álcool metílico, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir essa solução, com *Fase móvel*, de modo a obter concentração aproximada de 10 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HALOPERIDOL SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$. A solução injetável pode conter ácido láctico e conservantes adequados.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos de absorção em 245 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,0 a 3,8.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 71,4 UE/mg de haloperidol.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir quantitativamente volume de amostra equivalente a 10 mg de haloperidol para um funil de separação e adicionar 20 mL de ácido clorídrico a 5% (v/v). Extrair com quatro porções de 25 mL de éter etílico. Juntar as fases etílicas e adicionar, à fase aquosa, três porções de 5 mL de ácido clorídrico diluído (1 em 20). Transferir a fase aquosa para um balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com ácido clorídrico a 5% (v/v) e agitar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico. Preparar solução de haloperidol SQR na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 245 nm, utilizando 5 mL de ácido clorídrico a 5% (v/v) em 50 mL de álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFO_2$ na solução injetável a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HALOPERIDOL SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$. A solução oral pode conter ácido láctico e conservantes adequados.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume da solução oral equivalente a 10 mg de haloperidol para funil de separação. Adicionar 1 mL de hidróxido de sódio *M*, homogeneizar e extrair com uma porção de 10 mL de clorofórmio. Descartar a fase aquosa. Evaporar o extrato até secura. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Haloperidol*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.1.19). 2,5 a 3,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir quantitativamente volume de amostra equivalente a 10 mg de haloperidol para um funil de separação e adicionar 20 mL de ácido clorídrico diluído (1 em 20). Extrair com quatro porções de 25 mL de éter etílico. Juntar as fases etílicas e adicionar, à fase aquosa, três porções de 5 mL de ácido clorídrico diluído (1 em 20). Transferir a fase aquosa para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com ácido clorídrico diluído (1 em 20) e agitar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico. Preparar solução de haloperidol SQR na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 245 nm, utilizando 5 mL de ácido clorídrico diluído (1 em 20) em 50 mL de álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ na solução oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Haloperidol*. Preparar *Solução amostra* e *Solução de resolução* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir volume da solução oral equivalente a 10 mg de haloperidol para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução de resolução: preparar solução em *Fase móvel* contendo, aproximadamente, 10 µg de haloperidol SQR, 3 µg de metilparabeno e 3 µg de propilparabeno por mililitro.

Injetar, separadamente, replicatas de 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução de resolução*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos.. O fator de cauda para o pico do haloperidol é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados para o haloperidol é no máximo, 2,0%. A resolução entre os picos de haloperidol e os picos de metilparabeno e propilparabeno é, no mínimo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

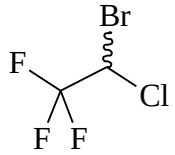
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HALOTANO

Halothanum



$C_2HBrClF_3$; 197,38
halotano; 04596
2-Bromo-2-cloro-1,1,1-trifluoretano
[*151-67-7*]

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido denso, incolor, móvel, não inflamável, produz sensação de queimadura.

Solubilidade. Levemente solúvel em água, miscível em álcool etílico e em óleos fixos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adicionar 5 mL de ácido sulfúrico a 5 mL da amostra. O ácido forma uma camada sobre a amostra (diferenciação do clorofórmio e do tricloroetileno).

B. A 0,3 mL da amostra contidos num tubo de ensaio de vidro de borossilicato 12 x 75 mm, adicionar um fragmento de sódio limpo de cerca de 8 mm de diâmetro e deixar repousar por alguns minutos. Prender o tubo em posição vertical e aquecer brandamente com um microqueimador até que o metal funda e a reação comece. Em seguida, retirar a fonte de calor e resfriar o tubo. Adicionar cautelosamente 2 mL de água e deixar a reação se completar. Filtrar a solução e adicionar 0,5 mL de ácido acético glacial ao filtrado. Adicionar duas gotas dessa solução a uma mistura de 0,1 mL de alizarina SI, recentemente preparada, e 0,1 mL de nitrato de zirconila SR. Há mudança de coloração de vermelha para amarela.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Agitar 20 mL da amostra em 20 mL de água isenta de dióxido de carbono por três minutos e deixar as camadas se separarem. A camada aquosa requer, no máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* ou, no máximo, 0,6 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* para neutralização, utilizando-se púrpura de bromocresol SI como indicador.

Cloreto e brometo. Agitar 25 mL da amostra em 25 mL de água por cinco minutos e deixar os líquidos se separarem completamente. Retirar a camada aquosa e, a 10 mL da mesma, adicionar uma gota de ácido nítrico e cinco gotas de nitrato de prata SR. Não deve produzir opalescência.

Timol.

Solução tampão: utilizar tampão de borato pH 8,0.

Solução de clorimida: dissolver 100 mg de 2,6-dibromoquinona-4-clorimida em 25 mL de álcool etílico absoluto. A solução deve ser recentemente preparada.

Solução padrão de timol: preparar solução de timol a 0,1 mg/mL em hidróxido de sódio 0,25 *M*.

Curva padrão de timol: pipetar 1 mL, 3 mL e 5 mL de *Solução padrão de timol* respectivamente em três balões volumétricos de 100 mL e adicionar, se necessário, hidróxido de sódio 0,25 *M*, para perfazer o volume de 5 mL. Adicionar 5 mL de hidróxido de sódio 0,25 *M* em um quarto balão para preparação do branco. Adicionar 10 mL de *Solução tampão* em cada balão, agitar brandamente e adicionar 1 mL de *Solução de clorimida*. Deixar repousar exatamente por 15 minutos, adicionar 3 mL de solução de hidróxido de sódio 0,25 *M* e completar o volume com água. Com espectrofotômetro adequado, medir as absorvâncias das soluções contendo timol e a do branco a 590 nm. Fazer o gráfico das leituras e calcular a curva de melhor ajuste.

Procedimento: colocar 2 mL da amostra, medidos com exatidão, em balão volumétrico de 100 mL contendo 5 mL de solução de hidróxido de sódio 0,25 *M* e agitar brandamente. Evaporar o halotano sob uma corrente de nitrogênio e adicionar 10 mL de *Solução tampão* e 1 mL de *Solução de clorimida*. Agitar brandamente e deixar repousar exatamente por 15 minutos, adicionar 3 mL de hidróxido de sódio 0,25 *M* e completar volume com água. Ler a absorvância da solução resultante e calcular a porcentagem de timol no peso de halotano utilizado, usando como referência a *Curva padrão de timol*. Contém, no mínimo, 0,008% e, no máximo, 0,012% de timol, em peso, como estabilizador.

Resíduo por evaporação. Evaporar 50 mL da amostra, numa cápsula tarada, em banho-maria até secura. Dessecar o resíduo em estufa a 105 °C por duas horas. O peso do resíduo não deve exceder 1 mg.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

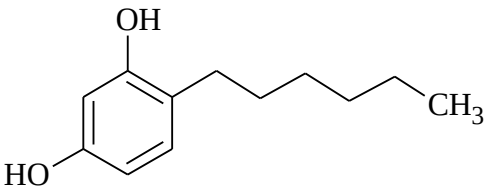
De acordo com legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico geral (inalação).

HEXILRESORCINA

Hexylresorcinolum



$C_{12}H_{18}O_2$; 194,27
hexilresorcina; 04636
4-Hexil-1,3-benzenodiol
[*136-77-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{18}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais aciculares brancos e levemente amarelados ou placas ou aglomerados de massas aciculares ou pó cristalino.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico, glicerol, álcool metílico e em óleos fixos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 62 °C a 67 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 10 mL de solução da amostra a 1% (p/v) em álcool etílico, adicionar duas gotas de cloreto férrico SR, forma-se coloração verde.

B. A 1 mL de solução saturada da amostra, adicionar 1 mL de ácido nítrico SR. Forma-se leve coloração vermelha.

C. A 1 mL de solução saturada da amostra, adicionar 1 mL de bromo 0,1 *M*. Produz-se precipitado flocoso amarelo que se dissolve pela adição de 2 mL de amônia SR e forma-se solução amarela.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver 0,25 g da amostra em 500 mL de água destilada. No máximo, 1,0 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* é gasto para neutralizá-la, utilizando vermelho de metila SI como indicador.

Resorcina e outros fenóis. Agitar cerca de 1 g da amostra com 50 mL de água durante alguns minutos. Filtrar. Adicionar ao filtrado três gotas de cloreto férrico SR. Não deve desenvolver coloração vermelha nem azul.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 70 mg a 100 mg da amostra, previamente dessecada sobre sílica-gel por quatro horas, e dissolver em 10 mL de álcool metílico, num frasco de iodo de 250 mL. Adicionar 30 mL de bromo 0,1 *M* SV e, em seguida, adicionar rapidamente 5 mL de ácido clorídrico, arrolhando-o imediatamente. Resfriar sob água corrente à temperatura ambiente. Agitar vigorosamente por cinco minutos e deixar em repouso por cinco minutos. Adicionar 6 mL de iodeto de potássio SR ao redor da rolha e, cautelosamente, afrouxar a rolha. Em seguida, fechar hermeticamente e agitar levemente. Adicionar 1 mL de clorofórmio e titular o iodo desprendido com tiossulfato de sódio 0,05 *M* SV, adicionando 3 mL de amido SI quando o ponto final se aproximar. Realizar ensaio em branco. Cada mL de bromo 0,1 *M* SV equivale a 4,857 mg de $C_{12}H_{18}O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

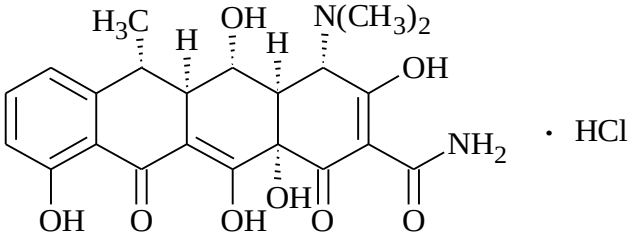
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico (nematoides e trematoides).

HICLATO DE DOXICICLINA

Doxycyclini hyclas



$C_{22}H_{24}N_2O_8$; 444,44
doxiciclina; 03217
(4 *S* , 4 a*R*, 5 *S* , 5 a*R*, 6*R*,12a*S*)-4-(Dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octaidro-3,5,10,12,12a-pentaidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida
[*564-25-0*]

$C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl.½C_2H_6O.½H_2O$; 512,94
hiclato de doxiciclina; 03222
Cloridrato de (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*R*,12a*S*)-4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octaidro-3,5,10,12,12a-pentaidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida etanolado hidratado (2:2:1:1)
[*24390-14-5*]

Contém o equivalente a, no mínimo, 800 μg e, no máximo, 920 μg de doxiciclina ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) por miligrama.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, amarelo, higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool metílico, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de hiclato de doxiciclina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra* obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Pesar 2 mg da amostra e adicionar 5 mL de ácido sulfúrico. Produz-se coloração amarela.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,0 a 3,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Absorção de luz. Dissolver 25 mg em uma mistura de ácido clorídrico *M* e álcool metílico (1:99) e diluir para 25 mL com a mesma mistura de solventes. Diluir 1 mL dessa solução para 100 mL com a mistura de ácido clorídrico *M* e álcool metílico (1:99). Proceder à leitura uma hora após a preparação da solução. A absorvância da solução da substância anidra e isenta de álcool etílico, medida em 349 nm, está compreendida entre 0,300 e 0,335.

Rotação óptica (5.2.8). -105° a -120°. Dissolver 0,25 g da amostra em uma mistura de ácido clorídrico *M* e álcool metílico (1:99) e diluir para 25 mL com o mesmo solvente. Realizar a leitura dentro de cinco minutos após a preparação.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir:

Solução (1): usar a *Solução amostra*, preparada conforme descrito em *Doseamento*.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de cloridrato de metaciclina SQR com *Diluente* e diluir, quantitativamente, para obter uma solução com concentração conhecida de 1,2 mg/mL.

Solução (3): usar a *Solução padrão*, preparada conforme descrito em *Doseamento*.

Solução (4): transferir 2 mL da *Solução (3)* e 2 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 100 mL, diluir com *Diluente* até completar o volume e homogeneizar. Essa solução contém cerca de 0,024 mg de hiclato de doxiciclina SQR e de cloridrato de metaciclina SQR por mL.

Solução (5): usar a *Solução de resolução*, preparada conforme descrito em *Doseamento*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (5)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,4 para a 4-epidoxiciclina (principal produto de degradação), 0,6 para metaciclina e 1,0 para doxiciclina. A resolução entre os picos de 4- doxiciclina e epidoxiciclina é, no mínimo, 3,0. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (4)* e da *Solução (1)* registrar os cromatogramas por tempo correspondente a 1,7 vezes o tempo de retenção da doxiciclina e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de metaciclina, segundo a equação.

$$10\,000\,(C_M/W)(r_u/r_M)$$

em que

C_M = concentração, em mg/mL, de cloridrato de metaciclina SQR na *Solução (4)*;
W = peso, em mg, de hiclato de doxiciclina na *Solução (1)*;
r_u = área sob o pico de metaciclina no cromatograma da *Solução (1)*;
r_M = área sob o pico de metaciclina no cromatograma da *Solução (4)*.

No máximo, 2,0% de metaciclina é encontrada. Calcular as porcentagens de outras substâncias relacionadas presentes na amostra segundo a equação:

$$10\,000\,(C_s/W)(r_i/r_s)$$

em que

C_S = concentração, em mg/mL, de hiclato de doxiciclina SQR na *Solução (4)*;
W = peso, em mg, de hiclato de doxiciclina na *Solução (1)*;
r_i = área sob o pico de cada substância relacionada no cromatograma na *Solução (1)*;
r_s = área sob o pico de doxiciclina no cromatograma na *Solução (4).*

No máximo, 0,5% de alguma impureza eluída antes da metaciclina é encontrada; no máximo, 2,0% de 6-epidoxiciclina é encontrada e, no máximo, 0,5% de alguma impureza eluída depois do pico principal da doxiciclina é encontrada.

Impurezas que absorvem luz. Dissolver 0,10 g da amostra em uma mistura de ácido clorídrico *M* e álcool metílico (1:99) e diluir para 10 mL com a mesma mistura de solventes. Proceder a medida uma hora após a preparação da solução. A absorvância da solução, medida em 490 nm, da substância anidra e isenta de álcool etílico, é de, no máximo, 0,7.

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método IV*. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Água (5.2.20.1). 1,4% a 2,8%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,4%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar o *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 1,14 UE/mg de doxiciclina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com copolímero esférico estireno divinilbenzeno (5 μm), mantida à (60 ± 1) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 2,72 g de fosfato de potássio monobásico, 0,74 g de hidróxido de sódio, 0,5 g de sulfato de tetrabutilamônio, e 0,4 g de edetato dissódico em 850 mL de água em balão volumétrico de 1000 mL. Adicionar 60 g de álcool *terc*-butílico com auxílio de água, completar o volume com água e ajustar o pH em 8,0 ± 0,1 com hidróxido de sódio *M*. Filtrar e desaerar a solução antes do uso. A diminuição na proporção de álcool *terc*-butílico resulta em prolongamento do tempo de retenção da doxiciclina e melhora a separação da doxiciclina de suas substâncias relacionadas.

Diluente: ácido clorídrico 0,01 *M*.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 120 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver e completar o volume com *Diluente*. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 12 mg de hiclato de doxiciclina SQR para balão volumétrico de 10 mL. Adicionar 6 mL de *Diluente*, agitar por cinco minutos ou até dissolver, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução de resolução: preparar solução de hiclato de doxiciclina SQR a 6 mg/mL utilizando *Diluente*. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL, aquecer em banho de vapor por 60 minutos e evaporar até secura em chapa aquecedora, tomando cuidado para não incinerar o resíduo. Dissolver o resíduo e completar o volume com o *Diluente*. Homogeneizar e filtrar. Essa solução contém uma mistura de 4-epidoxiciclina, 6-epidoxiciclina e doxiciclina. Quando estocada em refrigerador, essa solução pode ser usada por 14 dias.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,4 para 4-epidoxiciclina (o principal produto de degradação), 0,7 para 6-epidoxiciclina e 1,0 para doxiciclina. A resolução entre os picos de doxiciclina e 4-epidoxiciclina é, no mínimo, 3,0. O fator de cauda para o pico da doxiciclina é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas por tempo correspondente a 1,7 vezes o tempo de retenção da doxiciclina e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de doxiciclina ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) na amostra, em µg por miligrama, a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

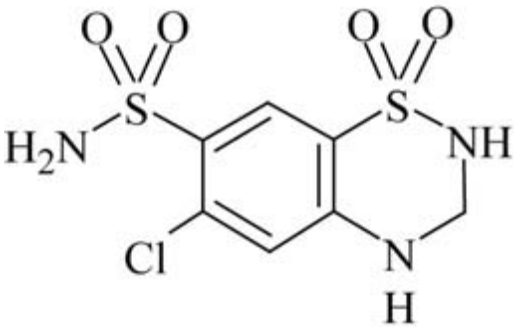
Observar a legislação vigente. Quando a substância é destinada à produção de preparações parenterais, o rótulo deve indicar se o produto é estéril ou se deve ser esterilizado durante o processo.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano; antiparasitário (peste, tracoma e malária).

HIDROCLOROTIAZIDA

Hydrochlorothiazidum



$C_7H_8ClN_3O_4S_2$; 297,74
hidroclorotiazida; 04652
1,1-Dióxido de 6-cloro-3,4-di-hidro-2*H*-1,2,4- benzotiadiazina-7-sulfonamida
[*58-93-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções de hidróxido de sódio.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 266 °C a 270 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***B.*** *e* ***C.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de hidroclorotiazida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Determinar a absorvância **(5.2.14)** das seguintes soluções:

Solução (1): dissolver 50 mg da amostra em 10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume para 100 mL de água. Diluir 10 mL dessa solução para 100 mL com solução de hidróxido de sódio 0,01 *M*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximo em 323 nm. A absorção em 323 nm é entre 0,450 a 0,475.

Solução (2): diluir 2 mL da *Solução (1)* para 100 mL com hidróxido de sódio 0,01 *M*. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximo em 273 nm. A absorção em 273 nm é entre 0,0505 a 0,0530.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Agitar 0,5 g da amostra com 25 mL de água por dois minutos e filtrar. A 10 mL desta solução, adicionar 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* e cinco gotas de vermelho de metila SI. A solução apresenta coloração amarela. No máximo, 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* são necessários para a viragem da coloração do indicador para rósea.

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1 g da amostra em 25 mL de acetona e completar o volume para 30 mL com água. 15 mL dessa solução devem satisfazer ao *Ensaio limite para cloretos*. Empregar como *Preparação padrão* 10 mL de solução padrão de cloreto (5 ppm Cl) adicionada de 5 mL de solução de acetona em água (85:15). No máximo 100 ppm.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por uma hora. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de solução de fosfato de potássio 0,1 *M* e acetonitrila (9:1). Desgaseificar, ajustar o pH para 3,0 e filtrar.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 30 mg de amostra para balão volumétrico de 200 mL, dissolver em volume de acetonitrila que não exceda a 10% da capacidade do balão, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade de hidroclorotiazida SQR, pesada com exatidão, na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,15 mg/mL. Pode-se utilizar volume de acetonitrila não superior a 10% do volume total da solução para dissolver a SQR.

Solução de resolução: dissolver quantidade de hidroclorotiazida SQR e clorotiazida, pesadas com exatidão, em *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,15 mg/mL de cada.

Injetar replicatas de 20 μL de *Solução de resolução*. O desvio padrão das áreas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%. Os tempos de retenção relativos são de cerca de 0,8 para clorotiazida e 1 para hidroclorotiazida e a resolução entre a hidroclorotiazida e a clorotiazida é, no mínimo, 2,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e mediar as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e para a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, em temperatura entre 15 °C e 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

HIDROCLOROTIAZIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó, equivalente a 10 mg de hidroclorotiazida, com 20 mL de acetona. Filtrar e evaporar o filtrado até secura. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Hidroclorotiazida*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila e álcool isopropílico (85:15), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó, equivalente a 10 mg de hidroclorotiazida, com 10 mL de acetona. Filtrar.

Solução (2): solução de hidroclorotiazida SQR a 1 mg/mL em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 272 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de hidroclorotiazida SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 60% (Q) da quantidade declarada de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Agitar quantidade do pó, equivalente a 30 mg de hidroclorotiazida, com 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* durante 20 minutos. Diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir com água até concentração de 0,0015% (p/v). Preparar solução padrão nas mesmas condições, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções em 273 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 520, em 273 nm.

B. Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Hidroclorotiazida*. Preparar a solução amostra como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 30 mg de hidroclorotiazida para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 20 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos. Adicionar 20 mL de acetonitrila e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos. Adicionar 50 mL de *Fase móvel* e agitar, mecanicamente, durante 10 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar, descartando os primeiros 10 mL do filtrado.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

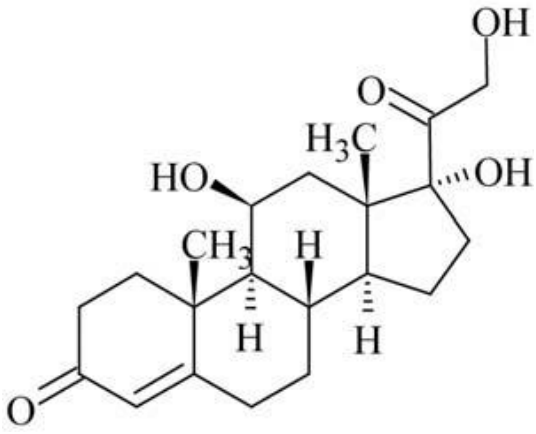
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HIDROCORTISONA

Hydrocortisonum



$C_{21}H_{30}O_5$; 362,47
hidrocortisona; 04664
(11β)-11,17,21-Tri-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona
[*50-23-7*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{21}H_{30}O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 214 °C a 215 °C, com decomposição.

Rotação óptica **(5.2.8)**: +150° a +156°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de hidrocortisona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução a 0,0002% (p/v) em álcool etílico, há máximos idênticos aos observados no espectro da solução preparada de maneira similar de hidrocortisona SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G 60, como suporte, e mistura de clorofórmio e álcool etílico (85:15), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 20 mg da amostra em 10 mL de mistura de clorofórmio-álcool metílico (9:1).

Solução (2): pipetar 1 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de clorofórmio e álcool metílico (9:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e examinar a placa sob luz ultravioleta (254 nm). Nenhuma mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (2)* (2,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 100 mg de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, 20 mg de amostra para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool etílico e agitar. Transferir 5 mL dessa solução para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool etílico. Preparar solução de hidrocortisona SQR na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 242 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{30}O_5$ a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimido e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm) e fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e álcool metílico (50:25:25).

Diluente: mistura de álcool metílico e água (1;1).

Solução padrão interno: preparar solução de propilparabeno a 1 mg/mL em álcool metílico.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e diluir com álcool metílico até completar o volume e homogeneizar. Transferir 2,0 mL dessa solução e 2,0 mL de *Solução padrão interno* para um balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg hidrocortisona SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver em álcool metílico, completar o volume e homogeneizar de modo a obter uma solução com concentração aproximada de 1 mg/mL. transferir 2,0 mL dessa solução e 2,0 mL de S*olução padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 3000 pratos teóricos para hidrocortisona. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para hidrocortisona e 1,8 para propilparabeno . O fator de cauda é, no máximo, 1,2. A resolução entre propilparabeno e hidrocortisona é, no mínimo, 9,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à hidrocortisona e ao propilparabeno. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{30}O_5$ a partir das respostas obtidas para a relação hidrocortisona/propilparabeno com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

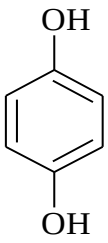
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

HIDROQUINONA

Hydrochinonum



$C_6H_6O_2$; 110,11
hidroquinona; 09457
1,4-Benzenodiol
[*123-31-9*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo 100,5% de $C_6H_6O_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais brancos e cristalinos que se tornam escuros à exposição ao ar.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 170 °C a 171 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de hidroquinona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,0025% (p/v) preparada em álcool metílico, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de hidroquinona SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). Determinar em 3 g da amostra. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra, dissolver em 100 mL de uma mistura de água e ácido sulfúrico 0,05 *M* (10:1) e adicionar 3 mL de difenilamina SR. Titular com sulfato cérico 0,05 *M* SV até o aparecimento de cor vermelha. Cada mL de sulfato cérico 0,05 *M* SV equivale a 5,506 mg de $C_6H_6O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Despigmentante.

HIDROXICOBALAMINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Hidroxicobalamina solução injetável contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 115% da quantidade declarada de $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$.

IDENTIFICAÇÃO

Diluir 3 mL da solução injetável para 100 mL utilizando tampão pH 4,0 descrito a seguir: dissolver 2,61 g de acetato de sódio e 20,5 g de cloreto de sódio em 5,25 mL de ácido acético glacial e água suficiente para perfazer 1500 mL de solução. Ajustar o pH se necessário. No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)** há máximos em (352 ± 1) nm e em (528 ± 2) nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 352 nm e 528 nm está compreendida entre 2,7 e 3,3.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 3,5 a 5,0.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Empregar o *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,4 UE/μg de hidroxicobalamina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**.

Tampão borato pH 9,3: dissolver 28,3 g de tetraborato sódico e 402 mg de ácido bórico em água suficiente para perfazer 1500 mL de solução e homogeneizar. Ajustar o pH se necessário.

Solução amostra: transferir volume, medido com exatidão, da solução injetável, equivalente a cerca de 5 mg de hidroxicobalamina, para um balão volumétrico de 50 mL, contendo 25mL de *Tampão borato pH 9,3*. Adicionar 5 mL de solução de cianeto de potássio (1:10 000). Deixar em repouso durante 30 minutos à temperatura ambiente e diluir com *Tampão borato pH 9,3* até o volume indicado e homogeneizar. Transferir 15 mL dessa solução para um segundo balão volumétrico de 50 mL, diluir com *Tampão borato pH 9,3* até o volume indicado e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver, em *Tampão borato pH 9,3*, uma quantidade suficiente de cianocobalamina SQR, pesada com exatidão, e diluir quantitativamente, passo a passo se necessário, para obter uma solução a 30 μg/mL.

Procedimento: determinar as absorvâncias das soluções em cubetas de 1 cm, em comprimento de onda de absorção máxima em cerca de 361 nm, em espectrofotômetro apropriado, utilizando *Tampão borato pH 9,3* como branco. Calcular a quantidade, em mg de $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$, em cada mL da solução injetável, segundo a expressão:

$$\frac{1346{,}38}{1355{,}39} \times \frac{0{,}1667 \times C}{V} \times \frac{A_u}{A_s}$$

em que

1346,38 e 1355,39 = são as massas molares de hidroxicobalamina e cianocobalamina, respectivamente;
C = concentração em µg/mL da solução de SQR de cianocobalamina na preparação da *Solução padrão*;
V = volume em mL, da solução injetável utilizada;
A_u e A_s = absorvâncias da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, respectivamente.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes de doses únicas ou múltiplas de vidro tipo I protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO

Aluminii hydroxidum

$Al(OH)_3$; 78,00
Al_2O_3; 101,96
hidróxido de alumínio; 04694
Hidróxido de alumínio
[*21645-51-2*]

Contém o equivalente a, no mínimo, 47,0% e, no máximo, 60,0% de Al_2O_3.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, amorfo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em soluções de ácidos e hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Misturar 15 mg da amostra em 2 mL de água e 0,5 mL de ácido clorídrico 2 *M*. Filtrar. Acrescentar 0,5 mL de tioacetamida SR. Não ocorre formação de precipitado. Adicionar hidróxido de sódio 2 *M*, gota a gota. Forma-se precipitado branco gelatinoso que se dissolve em excesso de hidróxido de sódio 2 *M*. Adicionar, gradualmente, cloreto de amônio SR. Produz-se precipitado branco gelatinoso.

B. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon alumínio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 2,5 g da amostra em 15 mL de ácido clorídrico SR, aquecer em banho-maria e completar o volume para 100 mL com água. A preparação obtida não é mais opalescente que a *Suspensão de referência II* **(5.2.25)** e não mais corada que a *Solução de referência de cor* **(5.2.12)** descrita a seguir.

Solução de referência de cor: preparar mistura de *Solução base de cloreto férrico*, *Solução base de cloreto cobaltoso* e *Solução base de sulfato cúprico* (96:2:2) **(5.2.12)**. Transferir 1,5 mL da solução obtida para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico a 1% (p/v).

Alcalinidade. Agitar cerca de 1 g da amostra em 20 mL de água isenta de dióxido de carbono, durante um minuto. Filtrar. Adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI a 10 mL do filtrado. Se desenvolver coloração rosa, no máximo, 0,3 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* é necessário para neutralizar 10 mL do filtrado.

Capacidade neutralizante. Agitar 0,5 g da amostra em 100 mL de água mantida à 37 °C durante todo o tempo do teste. Adicionar 100 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* a 37 °C e agitar continuamente. O pH da solução após 10 minutos, 15 minutos e 20 minutos é, no mínimo, 1,8, 2,3 e 3,0, respectivamente. Em nenhum momento, é superior a 4,5. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico 0,5 *M* a 37 °C e agitar continuamente por uma hora. Adicionar hidróxido de sódio 0,1 *M* a 37 °C até pH 3,5. No máximo, 35 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* são necessários.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar *Método visual*. Utilizar 30 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo, 0,0004% (4 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*, exceto que a *Preparação padrão* e a *Preparação amostra* não devem ser diluídas para 50 mL. No máximo, 1,0% (10 000 ppm).

Preparação amostra: dissolver 0,106 g da amostra, sob aquecimento, em 10 mL de ácido nítrico 2 *M* e completar o volume para 100 mL com água. Transferir 10 mL da solução obtida para tubo adequado e diluir para 25 mL com água

Preparação padrão: Transferir 0,3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* para tubo adequado e diluir para 25 mL com água.

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 0,33 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* com auxílio de aquecimento, filtrar, se necessário, e diluir para 25 mL com água. No máximo, 0,006% (60 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Diluir 4 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 100 mL com água. Utilizar 15 mL desta preparação. Para a *Preparação padrão*, utilizar 0,3 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo, 1,0% (10 000 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para *Alumínio*. Pesar, com exatidão, cerca de 0,8 g da amostra e dissolver em 10 mL de ácido clorídrico SR aquecendo em banho-maria. Deixar esfriar e diluir para 50 mL com água. A 10 mL dessa solução, adicionar amônia SR até iniciar a formação de precipitado. Adicionar volume suficiente de ácido clorídrico SR, necessário para dissolver o precipitado, e diluir para 20 mL com água. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 5,098 mg de Al_2O_3.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, em temperatura inferior a 30 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido.

HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $Al(OH)_3$. Os comprimidos mastigáveis podem conter agentes edulcorantes.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a cerca de 15 mg de hidróxido de alumínio, adicionar 2 mL de água e 0,5 mL de ácido clorídrico 2 *M*. Filtrar. Acrescentar 0,5 mL de tioacetamida SR. Não ocorre formação de precipitado. Adicionar hidróxido de sódio 2 *M*, gota a gota. Forma-se precipitado branco gelatinoso que dissolve em excesso de hidróxido de sódio 2 *M*. Adicionar, gradualmente, cloreto de amônio SR. Forma-se precipitado branco gelatinoso.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Dissolver quantidade do pó equivalente a 15 mg de hidróxido de alumínio em 2 mL de água. Satisfaz às reações do íon alumínio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

CAPACIDADE DE NEUTRALIZAÇÃO DA ACIDEZ

Transferir quantidade da amostra equivalente a um comprimido para um béquer de 250 mL. Adicionar 70 mL de água e misturar com agitador magnético por aproximadamente um minuto. Transferir 25 mL de ácido clorídrico *M* SV e agitar por 15 minutos. Titular o excesso de ácido imediatamente e, em um período adicional que não exceda a cinco minutos, com hidróxido de sódio 0,5 *M* SV para obter um pH estável de 3,5 (por 10 a 15 segundos). Conduzir o teste à temperatura de (37 ± 3) °C. No mínimo, 5 mEq de ácido é consumido e, no mínimo, 55,0% do valor esperado de mEq, a partir da quantidade declarada de hidróxido de alumínio, é obtido. Cada mg de $Al(OH)_3$ tem capacidade de neutralização de 0,0385 mEq.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 1,2 g de $Al(OH)_3$, adicionar 15 mL de ácido clorídrico concentrado e aquecer até dissolver. Diluir com água para cerca de 100 mL, agitar, filtrar quantitativamente para balão volumétrico de 500 mL, lavando o filtro com água. Completar o volume com água e agitar. Transferir 20 mL dessa solução para um erlenmeyer de 250 mL, adicionar 25 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV e 20 mL de tampão ácido acético-acetato de amônio e aquecer até fervura por cinco minutos. Esfriar, adicionar 50 mL de álcool etílico e 2 mL de ditizona a 0,025% (p/v). Titular a solução com sulfato de zinco 0,05 *M* SV até coloração rósea.

Realizar prova em branco, empregando 20 mL de água ao invés de 20 mL de solução amostra. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 3,900 mg de $Al(OH)_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO GEL

Gel de hidróxido de alumínio é uma suspensão de hidróxido de alumínio amorfo, na qual há substituição parcial de carbonato por hidróxido. Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $Al(OH)_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 1 g da amostra, adicionar 4 mL de ácido clorídrico concentrado. Aquecer a 60 °C por uma hora, resfriar, diluir para 50 mL com água e filtrar se necessário. A 10 mL da solução obtida, adicionar 0,5 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 0,5 de tioacetamida SR. Não ocorre formação de precipitado. Adicionar, lentamente, 5 mL de hidróxido de sódio 2 *M* e deixar em repouso por uma hora. Produz-se precipitado branco gelatinoso que se dissolve pela adição de 5 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Adicionar, lentamente, 5 mL de cloreto de amônio SR e deixar em repouso por 30 minutos. Produz-se novamente precipitado branco gelatinoso.

B. A 1 g da amostra, adicionar 4 mL de ácido clorídrico concentrado. Aquecer a 60 °C por uma hora, resfriar, diluir para 50 mL com água e filtrar se necessário. A solução obtida satisfaz às reações do íon alumínio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 5,5 a 8,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de cloretos. Transferir quantidade da amostra, pesada com exatidão, equivalente a 0,6 g de $Al(OH)_3$, para cápsula de porcelana. Adicionar 0,1 mL de cromato de potássio SR e 25 mL de água. Agitar. Gotejar nitrato de prata 0,1 *M* até coloração rosa persistente. No máximo, 8 mL de nitrato de prata 0,1 *M* são gastos (4,7%).

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, equivalente a 0,3 g de $Al(OH)_3$, em 20 mL de ácido sulfúrico 10 *M*. Proceder conforme descrito em *Método espectrofotométrico, Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2,3 g da amostra em 20 mL de ácido clorídrico *M* e 10 mL de água. Adicionar 0,5 mL de ácido nítrico e deixar em ebulição por 30 segundos. Esfriar, adicionar 2 g de cloreto de amônio e 2 g de tiocianato de amônio e extrair com duas porções de 10 mL de mistura de álcool isoamílico e éter etílico (1:1). Adicionar, à fase aquosa, 2 g de ácido cítrico e diluir para 40 mL com água. Utilizar 18 mL da solução resultante e proceder conforme descrito em *Método I*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver quantidade da amostra, pesada com exatidão, equivalente a 0,15 g de $Al(OH)_3$, em 5 mL de ácido clorídrico 3 *M*, aquecendo se necessário. Filtrar e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,8% (8000 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir quantidade da amostra, pesada com exatidão, equivalente a 1,5 g de $Al(OH)_3$, para béquer e adicionar 15 mL de ácido clorídrico concentrado, aquecendo para completa solubilização. Resfriar, transferir para balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água. Transferir 20 mL da solução para erlenmeyer de 250 mL e adicionar, com agitação constante, 25 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV e 20 mL de tampão ácido acético-acetato de amônio. Aquecer por cinco minutos. Resfriar, adicionar 50 mL de álcool etílico e 2 mL de ditizona a 0,025% (p/v) em álcool etílico. Titular com sulfato de zinco 0,05 *M* SV até mudança de cor de violeta-esverdeada para rosa. Realizar ensaio em branco, utilizando 20 mL de água, e fazer as correções necessárias. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 3,900 mg de $Al(OH)_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HIDRÓXIDO DE CÁLCIO
Calcii hydroxidum

$Ca(OH)_2$; 74,09
hidróxido de cálcio; 04696
Hidróxido de cálcio
[*1305-62-0*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 100,5% de $Ca(OH)_2$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em glicerol. Solúvel em ácidos, com liberação de calor.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir 0,8 g da amostra para gral de vidro, adicionar 10 mL de água, 0,5 mL de fenolftaleína SI e homogeneizar. Desenvolve-se coloração vermelha. Adicionar 17,5 mL de ácido clorídrico *M*. A suspensão torna-se incolor, sem efervescência. Triturar a mistura por um minuto. A cor vermelha aparece novamente. Adicionar 6 mL de ácido clorídrico *M* e triturar. A solução torna-se incolor.

B. Dissolver 0,1 g da amostra em ácido clorídrico SR e diluir para 10 mL com água. A solução satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Alcalinidade e metais alcalinos terrosos. Dissolver 1 g da amostra em mistura de 10 mL de ácido clorídrico e 40 mL de água. Aquecer até ebulição e adicionar 50 mL de ácido oxálico SR. Neutralizar com amônia e completar o volume para 200 mL com água. Deixar em repouso por uma hora e filtrar com filtro adequado. A 100 mL do filtrado, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico, cuidadosamente. Evaporar até secura e incinerar. No máximo, 20 mg de resíduos (4,0% de sulfatos).

Limite de carbonatos. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico *M* SV à solução obtida em *Doseamento*. Titular com hidróxido de sódio *M* SV utilizando 0,5 mL de alaranjado de metila SI como indicador. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV equivale a 50,05 mg de carbonato de cálcio. No máximo, 5,0% de $CaCO_3$.

Limite de substâncias insolúveis em ácidos. Dissolver 2 g da amostra em 30 mL de ácido clorídrico. Aquecer à ebulição e filtrar. Lavar o resíduo com água quente e incinerar. O peso do resíduo não é maior que 10 mg. No máximo, 0,5%.

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver 0,75 g da amostra em 15 mL de ácido clorídrico. Prosseguir conforme descrito em *Método espectrofotométrico, Método I*. A adição de 20 mL de ácido sulfúrico 3,5 *M* especificada no procedimento pode ser omitida. No máximo, 0,0004% (4 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,07 g da amostra em 7 mL de ácido nítrico. Diluir para 40 mL com água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,033% (330 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 0,3 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico SR e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,4% (4 000 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* e evaporar em banho-maria até secura. Dissolver o resíduo em 20 mL de água. Filtrar. Prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar em mufla a 900 ± 25 °C, até peso constante. No máximo, 34,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1,5 g da amostra e transferir para gral de vidro. Adicionar 20 mL a 30 mL de água e 0,5 mL de fenolftaleína SI. Titular com ácido clorídrico *M* SV, triturando a substância até desaparecimento da cor vermelha. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV equivale a 37,045 mg de $Ca(OH)_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e não metálicos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adstringente.

HIDRÓXIDO DE MAGNÉSIO

Magnesii hydroxidum

$Mg(OH)_2$; 58,32
hidróxido de magnésio; 04697
Hidróxido de magnésio
[*1309-42-8*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 100,5% de $Mg(OH)_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, fino, amorfo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em soluções de ácidos diluídos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Preparar suspensão aquosa da amostra e adicionar fenolftaleína SI. Desenvolve-se coloração rósea.

B. Dissolver cerca de 15 mg da amostra em 2 mL de ácido nítrico SR e neutralizar com solução de hidróxido de sódio 8,5% (p/v). A solução satisfaz às reações do íon magnésio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em mistura de 50 mL de ácido acético SR e 50 mL de água. Desenvolve-se leve efervescência. Ferver por dois minutos e diluir para 100 mL com ácido acético 2 *M*. Filtrar em cadinho-filtro de porcelana ou sílica, previamente calcinado e tarado, de porosidade adequada para obter um filtrado límpido. A preparação obtida não é mais intensamente corada que a *Solução de referência de cor* **(5.2.12)** descrita a seguir.

Solução de referência de cor: preparar mistura de três partes da *Solução base de cloreto cobaltoso*, 2,4 partes da *Solução base de sulfato cúprico*, três partes da *Solução base de cloreto férrico* e 1,6 partes de ácido clorídrico a 1% (p/v). No momento do uso, diluir 3,75 volumes dessa solução com 6,25 volumes de ácido clorídrico a 1% (p/v).

Limite de substâncias insolúveis em ácido acético. O peso do resíduo obtido em *Aspecto da preparação*, após lavagem com ácido acético 2 *M*, dessecação e incineração a 600 ºC, é, no máximo, 5 mg. No máximo, 0,1%.

Limite de substâncias solúveis. Misturar 2 g da amostra com 100 mL de água e ferver por cinco minutos. Filtrar ainda quente, em funil de vidro sinterizado, resfriar e diluir para 100 mL com água. Evaporar 50 mL da solução obtida à secura e dessecar entre 100 ºC e 105 ºC. O peso do resíduo é, no máximo, 20 mg. No máximo, 2,0%.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Proceder conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,0004% (4 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Diluir 1,3 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 150 mL com água. Determinar em 15 mL desta solução. No máximo, 1,5% (15 000 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 7 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Para a *Preparação padrão*, utilizar 1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. No máximo, 0,1% (1000 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 0,143 g da amostra em 5 mL de ácido clorídrico 2 *M* e diluir para 10 mL com água destilada. Utilizar 1 mL da solução obtida e proceder conforme descrito em *Método I*. Utilizar 10 mL de *Solução padrão de ferro (1 ppm Fe)*. No máximo, 0,07% (700 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1 g da amostra em 15 mL de ácido clorídrico 3 *M* e evaporar em banho-maria até secura. Próximo ao final da evaporação, agitar o resíduo com frequência para desintegrá-lo, de modo a obter um pó fino seco. Dissolver o resíduo em 20 mL de água e filtrar. Adicionar ao filtrado 2 mL de ácido acético *M* e diluir com água para 25 mL. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 2 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Para a *Preparação padrão*, utilizar 1 mL de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo, 0,5% (5000 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo, 2,0%.

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 0,5 g da amostra. Aquecer, gradativamente, até 900 ºC ± 25 ºC e calcinar até peso constante. No máximo, 41,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,1 g da amostra em 2 mL de ácido clorídrico 2 *M* e proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para magnésio. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 5,832 mg de $Mg(OH)_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiácido.

HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO

Kalii hydroxidum

KOH; 56,11
hidróxido de potássio; 04698
Hidróxido de potássio
[*1310-58-3*]

Contém, no mínimo, 85,0% e, no máximo, 100,5% de KOH.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Partículas brancas ou levemente amareladas, cristalinas, fornecidas como esferas, raspas, bastões ou pedaços irregulares. Higroscópico e deliquescente, absorve rapidamente o dióxido de carbono atmosférico. Ponto de fusão **(5.2.2)**: funde em torno de 360 ºC.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,1 g da amostra em 10 mL de água. Diluir 1 mL para 100 mL com o mesmo solvente. O pH **(5.2.19)** da solução resultante é, no mínimo, 10,5.

B. A solução aquosa da amostra a 1% (p/v) satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Limite de carbonatos. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Cada mL de ácido clorídrico *M* necessário para a viragem da solução de azul de bromofenol SI equivale a 69,103 mg de K_2CO_3. No máximo, 2,0%.

Limite de sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria atômica* **(5.2.13.1.1)**. Dissolver 1 g da amostra em 50 mL de água, adicionar 5 mL de ácido sulfúrico e completar a 100 mL com água. Diluir 1 mL desta solução para 10 mL com água. Preparar a solução de referência dissolvendo, em água, 0,5084 g de cloreto de sódio, previamente dessecado a 105 ºC por três horas, e diluir para 1000 mL com o mesmo solvente (0,2 mg/mL de sódio). Diluir com água para o preparo das soluções padrão, conforme necessário. Efetuar a leitura em 589 nm, usando como fonte de radiação lâmpada de catodo oco de sódio e chama do tipo ar-acetileno. No máximo, 1,0% (10 000 ppm).

Alumínio (5.3.2.10). *Exigido para hidróxido de potássio destinado à preparação de soluções de hemodiálise*. Dissolver 20 g da amostra em 100 mL de água e adicionar 10 mL de tampão de acetato pH 6,0. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio*. Utilizar, como solução de referência, mistura de 2 mL de *Solução padrão de alumínio (2 ppm Al)*, 10 mL de tampão acetato pH 6,0 e 98 mL de água. Para o branco utilizar mistura de 10 mL de solução tampão acetato pH 6,0 e 100 mL de água. No máximo, 0,00002% (0,2 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Pesar, com exatidão, cerca de 8,75 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver em 10 mL de água. Adicionar, lentamente, 2 mL de ácido nítrico, resfriar e

completar o volume com ácido nítrico SR. Utilizar 20 mL desta solução e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método III*. Dissolver 10 g da amostra em 15 mL de água. Cuidadosamente, adicionar 12 mL de ácido clorídrico, resfriar, diluir com ácido clorídrico 7,3% (p/v) e completar a 50 mL com o mesmo solvente. Utilizar 5 mL dessa solução. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Diluir 10 mL da solução obtida no teste para *Ferro* a 20 mL com água. Utilizar, como referência, *Solução padrão de chumbo (1 ppm Pb)*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Pesar, com exatidão, cerca de 15 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver em 15 mL de água. Adicionar, lentamente, 12 mL de ácido clorídrico, resfriar, e diluir para 50 mL com ácido clorídrico diluído. Utilizar 30 mL da solução obtida e 1 mL de solução padrão de ácido sulfúrico 0,005 *M*. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,005% (50 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra e dissolver em 25 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar 25 mL de cloreto de bário 0,025 *M*, recentemente preparado, e 0,3 mL de fenolftaleína SI. Adicionar, lentamente, sob agitação, 25 mL de ácido clorídrico *M* SV. Continuar a titulação com ácido clorídrico *M* SV até a viragem do indicador, de rosa para incolor. Adicionar 0,3 mL de solução de azul de bromofenol SI e continuar a titulação com ácido clorídrico *M* SV até a viragem do indicador de violeta-azulado para amarelo. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV utilizado na segunda parte da titulação equivale a 69,103 mg de K_2CO_3. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV utilizado na combinação das titulações equivale a 56,110 mg de alcalinidade total, calculada como KOH.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e não metálicos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HIDRÓXIDO DE SÓDIO

Natrii hydroxidum

NaOH; 40,00
hidróxido de sódio; 04699
Hidróxido de sódio
[*1310-73-2*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 100,5% de NaOH.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Massa cristalina branca a quase branca, fornecida como esferas, escamas ou outras formas, deliquescente, absorve dióxido de carbono prontamente.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A solução da amostra a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Transferir 5 g da amostra, pesada com exatidão, para um balão volumétrico de 50 mL. Diluir com água, completar o volume e homogeneizar. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). No mínimo, 11,0. Determinar em solução aquosa a 0,01% (p/v).

Limite de carbonatos. Determinar conforme descrito em *Doseamento*. No máximo, 2,0% considerando o cálculo para Na_2CO_3.

Potássio. Acidificar 5 mL de uma solução a 5% (p/v) com ácido acético 6 *M* e adicionar cinco gotas de cobaltinitrito de sódio SR. Nenhum precipitado é formado.

Metais pesados (5.3.2.3). Pesar 1 g da amostra, solubilizar em 20 mL de água e acrescentar 8 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

DOSEAMENTO

Dissolver 2 g da amostra, pesada com exatidão, em 80 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar 0,3 mL de fenolftaleína SI e titular com ácido clorídrico *M* SV. Adicionar 0,3 mL de solução de alaranjado de metila SI e continuar a titulação com ácido clorídrico *M* SV. Cada mL de ácido clorídrico *M* SV utilizado na segunda parte da titulação equivale a a 0,1060 g de Na_2CO_3, e cada mL do ácido clorídrico *M* SV utilizado na titulação total equivale a a 40,000 mg do total de álcali, calculado como NaOH.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos e bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente alcalinizante.

HIPOCLORITO DE SÓDIO SOLUÇÃO DILUÍDA

Solução aquosa de hipoclorito de sódio. Contém, no mínimo, 2,0% (p/v) e, no máximo, 3,0% (p/v) de NaClO, equivalente a, no mínimo, 1,9% (p/v) e, no máximo, 2,9% (p/v) de cloro ativo. Líquido límpido de cor amarelo-pálida esverdeada, com odor de cloro. É suscetível à luz e se deteriora gradualmente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Misturar 5 mL da amostra com 1 mL de iodeto de potássio a 15% (p/v). Desenvolve-se rapidamente coloração alaranjada, que logo desaparece. Adicionar, em seguida, cinco gotas de ácido clorídrico 2 *M* e gotas de amido SR. A solução adquire cor azul.

B. Misturar 1 mL da amostra com 50 mg de fenolftaleína. O líquido torna-se avermelhado.

C. A 5 mL da amostra, adicionar cinco gotas de ácido clorídrico 2 *M*. Ocorre aumento da intensidade da coloração esverdeada e formam-se bolhas de cloro gasoso.

D. Imergir, em 1 mL da amostra, papel de tornassol vermelho. A coloração do papel passa para azul, descorando-se em seguida.

E. A solução acidificada obtida no teste **C.** de *Identificação* satisfaz ao teste de chama para íons sódio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). No mínimo, 11,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de cálcio. Transferir 10 g da amostra para béquer de 150 mL, adicionar 10 mL de água, 5 mL de ácido clorídrico e 1 g de iodeto de potássio. Aquecer por cinco minutos, resfriar e adicionar 2 mL de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v). Evaporar até secura, resfriar, adicionar 2 mL de ácido clorídrico e 2 mL de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v). Lavar as paredes internas do béquer com poucos mililitros de água e filtrar, se necessário. Adicionar ao filtrado 3 mL de hidróxido de amônio e 5 mL de oxalato de amônio a 3,5% (p/v). Transferir quantitativamente para tubo de Nessler, completar o volume para 25 mL e homogeneizar. Nenhuma turbidez produzida dentro 15 minutos excede à da preparação padrão, obtida submetendo-se 10 mL de solução padrão de cálcio (10 ppm Ca) ao mesmo tratamento dado à amostra. No máximo, 0,001% (10 ppm).

DOSEAMENTO

Transferir, quantitativamente, 3 mL da amostra ou volume contendo entre 60 mg e 90 mg de NaClO ou entre 57 mg e 87 mg de cloro ativo para erlenmeyer de 250 mL com tampa. Adicionar cerca de 50 mL de água, 1 g de iodeto de potássio e 10 mL de ácido acético 6 *M*. Tampar, agitar e deixar em repouso, ao abrigo da luz, por 15 minutos. Lavar as paredes do frasco com poucos mililitros de água e titular o iodo formado com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV. Adicionar 1 mL de amido SR quando a coloração da solução se tornar amarelo-esverdeada. Continuar a titulação até o desaparecimento da cor azul. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a 3,723 mg de NaClO e a 3,545 mg de cloro ativo.

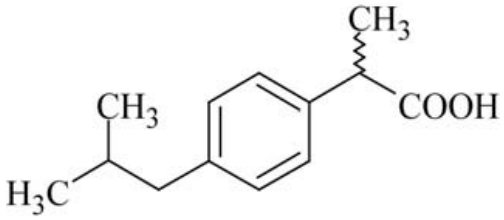
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e opacos, preferencialmente em temperatura abaixo de 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

IBUPROFENO
Ibuprofenum



$C_{13}H_{18}O_2$; 206,29
ibuprofeno; 04766
Ácido *α*-metil-4-(2-metilpropil)benzenoacético
[*15687-27-1*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{13}H_{18}O_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico e em álcool metílico. Solúvel em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 75 °C a 78 °C.

Rotação óptica **(5.2.8)**: +0,05° a –0,05°. Determinar em solução a 2,5% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ibuprofeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 240 nm a 300 nm, da solução a 0,025% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda da solução similar de ibuprofeno SQR. As respectivas absorvâncias, calculadas em relação à substância anidra, nos comprimentos de onda de 264 nm e 273 nm, diferem, no máximo, 3,0%.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 10% (p/v) em álcool etílico é límpida **(5.2.25)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G como suporte, e mistura de *n*-hexano, acetato de etila e ácido acético glacial (15:5:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 100 mg/mL da amostra em cloreto de metileno.

Solução (2): solução a 1 mg/mL da amostra em cloreto de metileno.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com *p*-dimetilaminobenzaldeído a 1% (p/v) em mistura de álcool etílico e ácido clorídrico (10:1), aquecer em estufa a 100 °C por cinco minutos e nebulizar com cloreto férrico a 5% (p/v). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da substância. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 100 mL de álcool etílico. Adicionar 3 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até a viragem para rosa. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 20,629 mg de $C_{13}H_{18}O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico, anti-inflamatório.

IBUPROFENO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{18}O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Misturar quantidade de pó equivalente a 0,5 g de ibuprofeno com 20 mL de acetona, agitar, filtrar e evaporar o filtrado até secura em corrente de ar, sem aquecimento. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo obtido, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observadas no espectro de ibuprofeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Recristalizar o resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* com éter de petróleo. A temperatura de fusão **(5.2.2)** do resíduo é cerca de 75 °C.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 7,2, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 150 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com tampão fosfato pH 7,2, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 221 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{18}O_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de ibuprofeno SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 60% (Q) da quantidade declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel como suporte e uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila e ácido acético glacial (15:5:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, á placa, 5 µL de cada uma das soluções descritas seguir.

Solução (1): agitar quantidade de pó equivalente a 0,2 g de ibuprofeno com 10 mL de clorofórmio, filtrar e reservar o filtrado. Repetir o procedimento com mais duas porções de 10 mL de clorofórmio

e reunir os extratos clorofórmicos. Evaporar o filtrado até cerca de 1 mL e adicionar quantidade suficiente de clorofórmio para 2 mL.

Solução (2): diluir um volume da *Solução (1)* para 100 volumes com clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar, nebulizar com *p*-dimetilaminobenzaldeído a 1% (p/v) em mistura de álcool etílico e ácido clorídrico (10:1), aquecer em estufa a 100 °C por cinco minutos e nebulizar com solução aquosa de cloreto férrico a 5% (p/v). Nenhuma mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Água (5.2.20.1). No máximo, 5,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade de pó equivalente a 0,5 g de ibuprofeno com 20 mL de clorofórmio. Filtrar em funil de vidro sinterizado e lavar o resíduo obtido com 50 mL de álcool etílico, previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando fenolftaleína SI como indicador. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até viragem para rosa. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 20,629 mg de $C_{13}H_{18}O_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 264 nm; coluna de 150 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 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico, água e álcool metílico (3:247:750).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 100 mg de ibuprofeno para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de *Fase móvel*, agitar por 30 minutos, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Centrifugar uma porção da suspensão obtida e usar o líquido sobrenadante.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ibuprofeno SQR na *Fase móvel* de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{18}O_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

IBUPROFENO SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{18}O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Evaporar gotas da *Solução (1)* e da *Solução (2)* do teste de identificação **B.** em corrente de ar fria. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo da *Solução (1)*, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro do resíduo da *Solução (2)*, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel GF_{254}, como suporte, e mistura de *n*-hexano, acetato de butila e ácido acético glacial (17:3:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume da suspensão oral equivalente a 200 mg de ibuprofeno para funil de separação, adicionar 10 mL de clorofórmio, misturar durante um minuto. Após a separação das fases, passar a camada inferior através de filtro contendo 2 g de sulfato de sódio anidro. Usar o filtrado. Utilizar uma porção dessa solução para o teste de identificação **A.**

Solução (2): solução de ibuprofeno SQR a 20 mg/mL em clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,6 a 4,6.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 7,2, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução de padrão interno: solução de benzofenona a 0,3 mg/mL em acetonitrila.

Solução amostra: retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Misturar 5 mL do filtrado com 5 mL da *Solução de padrão interno.*

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ibuprofeno SQR, no meio de dissolução, de modo a obter solução a 0,011*Q* mg/mL; *Q* é a quantidade rotulada, em mg, de ibuprofeno em cada mL de suspensão oral. Misturar 5 mL desta solução com 5 mL da *Solução de padrão interno.*

Injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{18}O_2$ dissolvido no meio, por meio da fórmula:

$$90.000(C/L)(D/P_u)(R_u/R_s)$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de ibuprofeno SQR na *Solução padrão;*
L = quantidade rotulada, em mg/mL, de ibuprofeno na suspensão oral;
D = densidade, em g/mL, da suspensão oral;
P_u = peso, em g, da suspensão oral adicionada no meio de dissolução;
R_u = razão entre as áreas sob os picos de ibuprofeno e benzofenona obtidos na *Solução amostra* e
R_s = razão entre as áreas sob os picos de ibuprofeno e benzofenona obtidos na *Solução padrão*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de ibuprofeno composto relacionado C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,01 *M* e acetonitrila (63:37).

Diluente: mistura de acetonitrila e água (1:1).

Solução (1): agitar o frasco contendo a amostra e transferir, imediatamente, o equivalente a 60 mg de ibuprofeno para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Diluente*. Transferir 20 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila. A solução deverá ser filtrada em membrana 0,22 µm.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ibuprofeno composto relacionado C SQR em acetonitrila, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 3 mL para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Diluente*. Transferir 2 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 18 mL de *Diluente* e completar o volume com acetonitrila. A solução deverá ser filtrada em membrana 0,22 µm. Esta solução padrão contém, aproximadamente, 0,0012 mg/mL de *ibuprofeno composto relacionado C.*

Solução de resolução: transferir 1,5 mL da *Solução (1)* e 9 mL de solução de ibuprofeno SQR a 1,2 mg/mL em *Diluente*, preparada no *Doseamento*, para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com acetonitrila. A solução deverá ser filtrada em membrana 0,22 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 35 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para ibuprofeno e 1,3 para *ibuprofeno composto relacionado C* . A resolução entre os picos de *ibuprofeno composto relacionado C* e ibuprofeno é, no mínimo, 1,5. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de réplicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%. Calcular a porcentagem de *ibuprofeno composto relacionado C* na suspensão oral por meio da fórmula:

$$(12.500C/VL)(A_u/A_s)$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de *ibuprofeno composto relacionado C* SQR na *Solução (2)*;
V = quantidade, em mL, de suspensão oral utilizada para preparar a *Solução amostra* do *Doseamento*;
L = quantidade rotulada, em mg/mL, de ibuprofeno na suspensão oral;
A_u e A_s = áreas sob os picos de *ibuprofeno composto relacionado C* obtidas a partir da *Solução (1)* e a *Solução (2).*

No máximo, 0,25%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 220 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,01 *M* e acetonitrila (63:37).

Diluente: mistura de acetonitrila e água (1:1)

Solução de padrão interno: solução de benzofenona a 3,2 mg/mL em acetonitrila.
Solução amostra: agitar o frasco contendo a amostra e transferir, imediatamente, o equivalente a 60 mg de ibuprofeno para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Diluente*. Transferir 10 mL dessa solução e 2,5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com acetonitrila.

Solução padrão: solução de ibuprofeno SQR a 1,2 mg/mL em *Diluente*. Transferir 10 mL dessa solução e 2,5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com acetonitrila.

Injetar replicatas de 5 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são 0,9 para benzofenona e 1,0 para ibuprofeno. A resolução entre ibuprofeno e benzofenona é, no mínimo, 1,5. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{18}O_2$ na suspensão oral por meio da fórmula:

$$125C(D/P_u)(R_u/R_s)$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de ibuprofeno SQR na *Solução padrão;*
D = densidade, em g/mL da suspensão oral;
P_u = massa, em g, da suspensão oral utilizada para o preparo da *Solução amostra;*
R_u = razão entre as áreas sob os picos de ibuprofeno e benzofenona obtidos na *Solução amostra* e
R_s = razão entre as áreas sob os picos de ibuprofeno e benzofenona obtidos na *Solução padrão*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

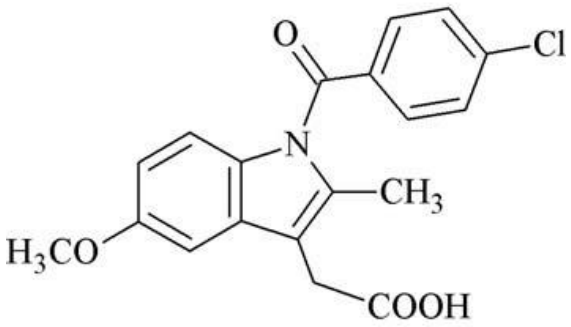
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INDOMETACINA

Indometacinum



$C_{19}H_{16}ClNO_4$; 357,79
indometacina; 04889
Ácido 1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-acético
[*53-86-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{19}H_{16}ClNO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou amarelo. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 158 ºC a 162 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes **B.**, **C.** e **D.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A**.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de indometacina SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos não forem idênticos, dissolver as substâncias, separadamente, em álcool metílico e evaporar até secura. Obter novos espectros com os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 300 nm a 400 nm, de solução a 0,0025% (p/v) em mistura de álcool metílico e ácido clorídrico (9:1), há máximo em 318 nm. A absorvância em 318 nm está compreendida entre 0,425 e 0,475.

C. Adicionar, a 0,1 mL de solução da amostra a 1% (p/v) em álcool etílico, 2 mL de mistura, recém preparada, de cloridrato de hidroxilamina a 25% (p/v) e hidróxido de sódio SR (1:3). Adicionar 2 mL de ácido clorídrico a 20% (p/v), 1 mL de cloreto férrico a 1,3% (p/v) e homogeneizar. Desenvolve-se coloração rosa-violeta.

D. Adicionar, a 0,5 mL de solução da amostra a 1% (p/v) em álcool etílico, 0,5 mL de *p*-dimetilaminobenzaldeído SR. Solubilizar o precipitado formado, sob agitação. Aquecer em banho-

maria. Produz-se coloração verde-azulada. Aquecer por cinco minutos e resfriar em banho de gelo por dois minutos. Forma-se precipitado e a coloração muda para verde-acinzentada. Adicionar 3 mL de álcool etílico. A preparação torna-se clara e de coloração rosa-violeta.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando suspensão de sílica-gel HF_{254} em fosfato de sódio monobásico a 4,68% (p/v) para preparar o suporte da cromatoplaca, e mistura de éter de petróleo e éter etílico (30:70), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 20 mg/mL em álcool metílico. Preparar imediatamente antes do uso.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* a 200 mL com álcool metílico, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar 2 g da amostra e proceder conforme descrito em *Método IV*. Preparar a solução padrão utilizando 4 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 ºC, até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,3 g da amostra em 75 mL de acetona. Borbulhar nitrogênio isento de dióxido de carbono, por 15 minutos. Adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, mantendo o fluxo de nitrogênio constante, até coloração rósea. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 35,779 mg de $C_{19}H_{16}ClNO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: solução de fosfato de sódio monobásico 0,01 *M* e fosfato de sódio dibásico 0,01 *M*, preparada utilizando mistura de acetonitrila e água (1:1) como solvente.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver em *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: solução de indometacina SQR a 0,1 mg/mL em *Fase móvel*.

A eficiência da coluna é, no mínimo, 500 pratos teóricos/coluna. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{19}H_{16}ClNO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório, analgésico.

INDOMETACINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{19}H_{16}ClNO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar as cápsulas, remover os conteúdos e pesá-las novamente. Homogeneizar o pó e misturar quantidade equivalente a 50 mg de indometacina com 10 mL de acetona durante dois minutos e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para erlenmeyer com tampa, adicionar 20 mL de água e agitar durante dois minutos até formação de precipitado cristalino. Filtrar e recolher os cristais. Secar os cristais à temperatura ambiente e dessecar em estufa a 100 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** dos cristais, dispersos em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de indometacina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 300 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no *Doseamento*, há máximo em 320 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

C. Proceder conforme descrito em C*romatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel como suporte, e mistura de clorofórmio e álcool metílico (4:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar as cápsulas, remover os conteúdos e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Misturar quantidade do pó equivalente a 25 mg de indometacina com 25 mL de álcool metílico, obtendo solução a 1 mg/mL. Filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de indometacina SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

D. Misturar quantidade do pó obtido no teste **A.** de *Identificação*, equivalente a 25 mg de indometacina, com 2 mL de água e adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Desenvolve-se coloração amarelo-clara, que enfraquece rapidamente.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir o conteúdo de cada cápsula para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 10 mL de água, deixar em repouso por 10 minutos, agitando ocasionalmente. Acrescentar 75 mL de álcool metílico, agitar mecanicamente por 10 minutos, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com mistura de álcool metílico e tampão fosfato pH 7,2 (1:1) até concentração de 0,0025% (p/v). Prosseguir conforme descrito em *Doseamento.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: mistura de tampão fosfato pH 7,2 e água (1:4), 750 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 20 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em mistura de tampão fosfato pH 7,2 e água (1:4), até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 318 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{16}ClNO_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de indometacina SQR na concentração de 0,0025% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{19}H_{16}ClNO_4$ se dissolvem em 20 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Indometacina*. Preparar as *Soluções (1)* e *(2)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar as cápsulas, remover os conteúdos e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Misturar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de indometacina com 5 mL de clorofórmio e filtrar, obtendo solução a 20 mg/mL.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com clorofórmio, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar 20 cápsulas, remover os conteúdos e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a cerca de 50 mg de indometacina e transferir para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de água e deixar em repouso por 10 minutos, agitando ocasionalmente. Acrescentar 75 mL de álcool metílico, homogeneizar, completar o volume com álcool metílico e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com mistura de tampão fosfato pH 7,2 e álcool metílico (1:1), de modo a obter solução a 0,0025% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 320 nm, utilizando mistura de tampão fosfato pH 7,2 e álcool metílico (1:1) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{16}ClNO_4$ nas cápsulas a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 193, em 320 nm, em mistura de tampão fosfato pH 7,2 e álcool metílico (1:1) .

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

INDOMETACINA SUPOSITÓRIOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{19}H_{16}ClNO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar os supositórios, triturar ou cortar em pequenos pedaços e misturar até obter massa homogênea. Dissolver quantidade equivalente a 0,1 g de indometacina em 50 mL de água quente e filtrar. Lavar o resíduo com água quente, deixar secar ao ar. Dissolver o resíduo em 5 mL de clorofórmio e evaporar até secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de indometacina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel, como suporte, e mistura de clorofórmio e ácido acético glacial (19:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar os supositórios, triturar ou cortar em pequenos pedaços e misturar até obter massa homogênea. Transferir quantidade equivalente a 25 mg de indometacina para funil de separação de 125 mL, adicionar 15 mL de água e 50 mL de éter etílico e agitar até dissolução. Transferir a camada etérea para balão volumétrico de 200 mL e extrair a camada aquosa com mais duas porções de 50 mL de éter etílico. Combinar os extratos etéreos e completar o volume com éter etílico.

Solução (2): solução a 0,125 mg/mL de indometacina SQR em mistura de álcool metílico e éter etílico (1:100). Dissolver previamente em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. Pesar os supositórios, triturar ou cortar em pequenos pedaços e misturar até obter massa homogênea. Agitar quantidade equivalente a 25 mg de indometacina com 5 mL de água até que uma suspensão branca seja produzida. Adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Desenvolve-se coloração amarelo-clara que enfraquece rapidamente.

CARACTERÍSTICAS

Teste de desintegração (5.1.4.2). Realizar o teste por 90 minutos em tampão fosfato pH 6,8 utilizando três supositórios pesados com exatidão. Após o teste, remover cada supositório, secar em papel de filtro e pesar. No mínimo, 75% de cada supositório é dissolvido.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir cada supositório para balão volumétrico de 100 mL contendo 80 mL de mistura de álcool metílico e ácido acético glacial (199:1), agitar mecanicamente até dissolução do supositório e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com mistura de álcool metílico e ácido acético glacial (199:1) até concentração de 0,0025% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 320 nm, utilizando álcool metílico e

ácido acético glacial (199:1) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{16}ClNO_4$ nos supositórios a partir das leituras obtidas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar 10 supositórios, triturar ou cortar em pequenos pedaços e misturar até obter massa homogênea. Pesar, com exatidão, quantidade equivalente a cerca de 0,1 g de indometacina, transferir para balão volumétrico de 50 mL com auxílio de 40 mL de álcool metílico e agitar até completa dispersão. Completar o volume com álcool metílico e filtrar. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com mistura de tampão fosfato pH 7,2 e álcool metílico (1:1). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções em 318 nm, utilizando mistura de tampão fosfato pH 7,2 e álcool metílico (1:1) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{16}ClNO_4$ nos supositórios a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 193, em 318 nm, em mistura de tampão fosfato pH 7,2 e álcool metílico (1:1).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

IODETO DE POTÁSSIO
Kalii iodidum

KI; 166,00
iodeto de potássio; 04965
Iodeto de potássio
[*7681-11-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de KI, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em glicerol e solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono satisfaz às reações do íon iodeto **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação utilizada no teste **A.** de *Identificação* é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Alcalinidade. A 12,5 mL da solução utilizada no teste **A.** de *Identificação*, adicionar 0,1 mL de azul bromotimol SI e titular com ácido clorídrico 0,01 *M* até coloração amarela. No máximo, 0,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*.

Iodatos. A 10 mL da solução utilizada no teste **A.** de *Identificação*, adicionar 0,25 mL de amido isento de iodeto SI e 0,2 mL de ácido sulfúrico *M*. Deixar em repouso, protegido da luz, por dois minutos. Não se desenvolve coloração azul.

Tiossulfato. A 10 mL da solução utilizada no teste **A.** de *Identificação*, adicionar 0,1 mL de amido iodetado SI e 0,1 mL de iodo 0,005 *M*. Desenvolve-se coloração azul.

Ferro (5.3.2.4). Diluir 5 mL da solução obtida no teste **A.** de *Identificação* para 10 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro, Método I*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Usar 20 mL da solução obtida no teste **A.** de *Identificação*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 8 g da amostra em 15 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,015% (150 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1,5 g da amostra, dissolver em água e completar para 100 mL com o mesmo solvente. A 20 mL dessa solução, adicionar 40 mL de ácido clorídrico concentrado e titular com iodato de potássio 0,05 *M* SV, até mudança de cor de marrom para amarela. Adicionar 5 mL de clorofórmio. Continuar a titulação, agitando vigorosamente, até descoloração da camada clorofórmica. Cada mL de iodato de potássio 0,05 *M* SV equivale a 16,600 mg de KI.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antitireoidiano.

IODETO DE SÓDIO

Natrii iodidum

NaI; 149,89
iodeto de sódio; 04969
Iodeto de sódio
[*7681-82-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,5% de NaI, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores higroscópicos.

Solubilidade. Muito solúvel em água e facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 10 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. A solução resultante satisfaz às reações do íon iodeto **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 10 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Alcalinidade. A 12,5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,1 mL de azul de bromotimol SI. No máximo, 0,7 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* é necessário para a viragem do indicador.

Bário. Uma solução da amostra a 20% (p/v), acidificada com ácido clorídrico, não deve se turvar com a adição de sulfato de potássio a 1% (p/v).

Iodetos. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,25 mL de amido isento de iodeto SI e 0,2 mL de ácido sulfúrico *M*. Deixar em repouso, ao abrigo da luz, durante dois minutos. Não se desenvolve coloração azul.

Nitrato, nitrito e amônia. Adicionar 5 mL de hidróxido de sódio *M* e cerca de 0,2 g de alumínio metálico a uma solução de 1 g da amostra em 5 mL de água, em um tubo de ensaio com capacidade para 40 mL. Introduzir um chumaço de algodão na parte superior do tubo e colocar um pedaço de papel tornassol vermelho na boca do tubo de ensaio. Aquecer em banho-maria por 15 minutos. Nenhuma coloração azul no papel é observada.

Potássio. Uma solução de 1 g da amostra em 2 mL de água não deve precipitar com 1 mL de bitartarato de sódio SR.

Tiossulfatos. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar 0,1 mL de amido iodetado SR e 0,1 mL de iodo 0,005 *M*. Desenvolve-se coloração azul.

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro*. Utilizar 0,2 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm de Fe)*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Pesar 2 g da amostra, solubilizar em 2 mL de água e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Utilizar 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e diluir para 15 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos.* No máximo, 0,015% (150 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra previamente dessecada e solubilizar em 10 mL de água. Adicionar 15 mL de ácido clorídrico e titular com iodato de potássio 0,1 *M* SV até mudança de cor de vermelha para amarela. Adicionar 5 mL de clorofórmio e continuar a titulação, agitando vigorosamente até a descoloração da camada clorofórmica. Cada mL de iodato de potássio 0,1 *M* SV equivale a 29,978 mg de NaI.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Expectorante e anti-hipertiroidiano.

IODO
Iodum

I_2; 253,80
iodo; 04983
Iodo
[*7553-56-2*]

Contém, no mínimo, 99,5% e, no máximo, 100,5% de I.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais finos, violáceos e com brilho metálico.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, solúvel em álcool etílico, pouco solúvel em glicerina. Muito solúvel em soluções concentradas de iodetos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Em um tubo de ensaio, aquecer uma pequena porção da amostra. Vapores violáceos são liberados, os quais se condensam sobre as paredes do tubo na forma de cristais azulados.

B. A uma solução saturada da amostra, adicionar solução de amido SR. Uma coloração azul é produzida. Aquecer até descoloração. Com resfriamento, a coloração azul reaparece.

ENSAIOS DE PUREZA

Cianeto. Agitar vigorosamente 1 g da amostra com 30 mL de água e filtrar. A 5 mL do filtrado, juntar dez gotas de tiossulfato de sódio 0,1 *M*, um cristal de sulfato ferroso, uma gota de cloreto férrico SR e ferver. Deixar esfriar. Acidificar com ácido clorídrico. Não se desenvolve coloração azul.

Sulfato. Diluir 3 mL do filtrado obtido em *Cianeto* para 5 mL com água, adicionar uma gota de ácido clorídrico e cinco gotas de cloreto de bário SR. Não se observa turvação.

Limite de brometos e cloretos. Triturar 3 g da amostra e misturar com 20 mL de água. Filtrar, lavar o filtro com água e diluir para 30 mL com o mesmo solvente. Adicionar 1 g de zinco em pó. Após descoloração da solução, filtrar, lavar o filtro com água e completar o volume para 40 mL com o mesmo solvente. A 10 mL da solução, adicionar 3 mL de amônia e 6 mL de solução de nitrato de prata 0,1 *M*. Em seguida, filtrar novamente, lavar o filtro com água e completar o volume para 20 mL com o mesmo solvente. Tratar 10 mL da solução com 1,5 mL de ácido nítrico. Após um minuto, a opalescência apresentada pela preparação não deve ser mais intensa que a de uma preparação padrão obtida simultaneamente, com uma mistura de 10,75 mL de água, 0,25 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*, 0,2 mL de ácido nítrico a 20% (p/v) e 0,3 mL de solução de nitrato de prata 0,1 *M*. No máximo, 0,025% (250 ppm).

Resíduo por evaporação. Transferir, quantitativamente, cerca de 5 g da amostra para uma cápsula de porcelana, aquecer em banho-maria até todo o iodo ser sublimado e, em seguida, secar em estufa a 105 °C por uma hora. No máximo, 0,05%.

DOSEAMENTO

Transferir, quantitativamente, cerca 0,2 g de iodo para erlenmeyer contendo 1 g de iodeto de potássio e 2 mL de água. Adicionar 1 mL de ácido acético diluído e, após a dissolução, adicionar 50 mL de água. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, em temperatura inferior a 15 °C, até a descoloração da cor amarelo-escura para a cor amarelo-pálida. Adicionar algumas gotas de amido SI e continuar a titulação até o desaparecimento da cor azul. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a 12,690 mg de I.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da luz e do calor.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano, anti-hipertireoidiano.

IODO, TINTURA FORTE

A tintura de iodo forte é constituída de 6,5 g de iodo, na presença de iodeto de sódio e álcool etílico diluído. Contém, no mínimo, 5,85 g e, no máximo, 7,15 g de iodo em 100 mL de solução. O iodeto de sódio pode ser substituído pelo iodeto de potássio contendo, no mínimo, 2,25 g de iodeto em 100 mL de solução.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adicionar uma gota de amostra a uma solução de amido a 0,2% (p/v). Uma cor azul é produzida.

B. Evaporar cerca de 3 mL da amostra em banho-maria até secura. O resíduo satisfaz à reação 1 do íon sódio **(5.3.1.1).**

C. O resíduo obtido no teste **B.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon iodeto **(5.3.1.1.)**.

ENSAIO DE PUREZA

Álcool (5.3.3.8). Proceder conforme descrito em *Determinação do álcool*. Entre 82% e 88,5% (v/v).

DOSEAMENTO

Iodo. Transferir 5 mL da tintura de iodo forte para erlenmeyer contendo 20 mL de água. Adicionar três gotas de amido SI e titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a 12,690 mg de iodo (I).

Iodeto de sódio ou iodeto de potássio. Transferir 5 mL da tintura de iodo forte para erlenmeyer contendo 30 mL de água e adicionar 10 mL de ácido clorídrico. Titular com iodato de potássio 0,05 *M* SV até coloração marrom clara. Adicionar 5 mL de clorofórmio e continuar a titulação, agitando vigorosamente até a descoloração da camada clorofórmica. Do volume de iodato de potássio 0,05 *M* SV gasto, subtrair metade do volume de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV gasto no ensaio de doseamento para iodo. Cada mL de iodato de potássio 0,05 *M* SV remanescente equivale a 14,989 mg de iodeto de sódio (NaI) ou a 16,600 mg de iodeto de potássio (KI).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos do calor.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

IODO, TINTURA FRACA

A tintura de iodo fraca é constituída de 2 g de iodo, na presença de 2,4 g de iodeto de sódio em 100 mL de álcool etílico a 50% (v/v). Contém, no mínimo, 1,8 g e, no máximo, 2,2 g de iodo em 100 mL de solução. O iodeto de sódio pode ser substituído pelo iodeto de potássio contendo, no mínimo, 1,35 g de iodeto em 100 mL de solução.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adicionar uma gota de amostra a uma solução de amido a 0,2% (p/v). Uma cor azul é produzida.

B. Evaporar 3 mL da amostra em banho-maria até secura. O resíduo satisfaz à reação 1 para íon sódio **(5.3.1.1)** e às reações para iodeto **(5.3.1.1).**

ENSAIO DE PUREZA

Álcool (5.3.3.8). Proceder conforme descrito em *Determinação do álcool*. Entre 44% e 50%.

DOSEAMENTO

Iodo. Transferir 5 mL da tintura de iodo fraca para erlenmeyer contendo 20 mL de água. Adicionar três gotas de amido SI e titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV equivale a 12,690 mg de iodo (I).

Iodeto de sódio ou iodeto de potássio. Transferir 5 mL da tintura de iodo fraca para erlenmeyer contendo 30 mL de água e adicionar 10 mL de ácido clorídrico. Titular com iodato de potássio 0,05 *M* SV até coloração marrom clara. Adicionar 5 mL de clorofórmio e continuar a titulação, agitando vigorosamente até a descoloração da camada clorofórmica. Do volume de iodato de potássio 0,05 *M* SV gasto, subtrair metade do volume de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV gasto no ensaio de doseamento para iodo. Cada mL de iodato de potássio 0,05 *M* SV remanescente equivale a 14,989 mg de iodeto de sódio (NaI) ou a 16,600 mg de iodeto de potássio (KI).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

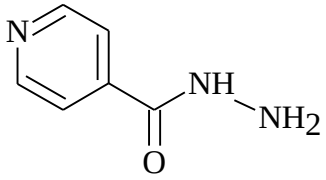
Em recipientes bem fechados, protegidos do calor.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ISONIAZIDA

Isoniazidum



$C_6H_7N_3O$; 137,14
isoniazida; 05092
Hidrazida do ácido 4-piridinacarboxílico
[*54-85-3*]

Contém, no mínimo 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_6H_7N_3O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou incolor.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 170 °C a 174 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de isoniazida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução da amostra obtida no método **B**. de *Doseamento*, há máximos em 212 nm e 265 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} como suporte, e mistura de água, acetona, álcool metílico e acetato de etila (5:20:10:75) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 1 g da amostra em mistura de água e acetona (1:1) e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 50 mg de sulfato de hidrazina em 50 mL de água e completar para 100 mL com acetona. Transferir 10 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 0,2 mL da *Solução (1)* e completar o volume com mistura de água e acetona (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a obtida com a *Solução (2)* (0,2%). Nebulizar as placas com *p*-dimetilaminobenzaldeído SR1. Uma mancha adicional, correspondente à hidrazina, aparece no cromatograma. Qualquer mancha correspondente à hidrazina obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C ± 1°C, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 250 mg da amostra. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir volumetricamente 20 mL desta solução para erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 100 mL de água destilada, 20 mL de ácido clorídrico SR, 0,2 g de brometo de potássio e 0,05 mL de vermelho de metila SI. Titular com bromato de potássio 0,0167 *M* SV até o desaparecimento da coloração vermelha do indicador. Cada mL de bromato de potássio 0,0167 *M* SV equivale a 3,429 mg de isoniazida ($C_6H_7N_3O$).

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e dissolver em ácido clorídrico 0,01 *M*. Deixar em banho de ultrassom, se necessário, e completar o volume para 250 mL com o mesmo solvente. Diluir com ácido clorídrico 0,01 *M* até a concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 265 nm, utilizando ácido clorídrico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_6H_7N_3O$ na amostra a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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.

Tampão fosfato pH 6,9: preparar solução de fosfato de potássio monobásico a 0,1 *M* e ajustar o pH em 6,9 com solução concentrada de hidróxido de sódio SR. Adicionar cinco gotas de trietanolamina, por litro de tampão preparado, e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 6,9* e álcool metílico (95:5).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, 32 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 40 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 0,32 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de isoniazida SQR em *Fase móvel* para obter solução a 0,32 mg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 1800 pratos teóricos. O fator de retenção é, no mínimo, 2,35. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_6H_7N_3O$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

ISONIAZIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_7N_3O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximos de absorção em 212 nm e 265 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 1 mg de isoniazida para erlenmeyer, adicionar 50 mL de álcool etílico e agitar. A 5 mL da solução resultante, adicionar 0,1 g de tetraborato sódico e 5 mL de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno a 5% (p/v) em álcool etílico. Evaporar em banho-maria até a secura e aquecer por mais 10 minutos. Adicionar 10 mL de álcool metílico ao resíduo e homogeneizar. Desenvolve-se coloração púrpura-avermelhada.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,01 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 265 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_7N_3O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a solução de isoniazida SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_6H_7N_3O$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Dissolver quantidade de pó equivalente a 0,4 g de isoniazida em água, transferir para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e agitar. Filtrar. Transferir 50 mL da solução obtida para erlenmeyer. Adicionar 50 mL de água, 20 mL de ácido clorídrico SR e 0,2 g de brometo de potássio e titular com solução de bromato de potássio 0,0167 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de bromato de potássio 0,0167 *M* equivale a 3,429 mg de $C_6H_7N_3O$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,1 g de isoniazida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,001% (p/v), utilizando o mesmo solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 265 nm, utilizando ácido clorídrico 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_7N_3O$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento* da monografia de *Isoniazida*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 32 mg de isoniazida para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 40 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Resfriar à temperatura ambiente, completar o volume com *Fase móvel* e centrifugar por cinco minutos, de modo a obter solução a 0,32 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de isoniazida ($C_6H_7N_3O$) nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

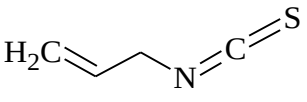
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ISOTIOCIANATO DE ALILA



C_4H_5NS; 99,15
isotiocianato de alila; 09889
3-Isotiocianato-1-propeno
[*57-06-7*]

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 105,0% de C_4H_5NS.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido viscoso, variando de incolor a levemente amarelo. É agente fortemente lacrimejante, possui odor irritante e, durante sua manipulação, deve-se utilizar protetor de olhos e evitar inalação.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 1,013 a 1,020.

Faixa de destilação **(5.2.3)**: 148 °C a 154 °C.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,527 a 1,531, determinado a 20 °C.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em cloreto de sódio ou brometo de potássio, há bandas de absorção em 700 cm^{-1}, 950 cm^{-1}, 980 cm^{-1}, 1300 cm^{-1}, 1340 cm^{-1}, 1350 cm^{-1}, 1410 cm^{-1}, 1420 cm^{-1}, 1650 cm^{-1}, 2100 cm^{-1} e 2200 cm^{-1}.

ENSAIOS DE PUREZA

Fenóis. Diluir 1 mL de amostra em 5 mL de álcool etílico e adicionar uma gota de cloreto férrico SR. Não ocorre formação de coloração azul.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir, quantitativamente, cerca de 4 mL da amostra para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool etílico. Transferir 5 mL desta solução para um balão de destilação, juntamente com 50 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV e 5 mL de solução de amônia a 10% (v/v). Conectar o balão em um condensador de refluxo, aquecer em banho-maria por uma hora e arrefecer à temperatura ambiente. Desconectar o balão do condensador de refluxo, transferir o conteúdo para

um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Filtrar a solução, descartando 10 mL do volume inicial do filtrado. Para cada 50 mL do filtrado, adicionar 5 mL de ácido nítrico, 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR e titular o excesso de nitrato de prata com tiocianato de amônio 0,1 *M* SV. Realizar prova em branco utilizando 5 mL de álcool etílico, ao invés da solução amostra. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* equivale a 4,958 mg de C_4H_5NS.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antissecretora.

ISOTRETINOÍNA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{28}O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal do cromatograma da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 353 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,4 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (77:23) com 0,5% (v/v) de ácido acético glacial.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 20 mg de isotretinoína para balão volumétrico âmbar de 100 mL. Adicionar 80 mL de álcool metílico e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico âmbar de 25 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: transferir 20 mg de isotretinoína SQR, pesados com exatidão, para balão volumétrico âmbar de 50 mL. Dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL da solução anterior para balão volumétrico âmbar de 50 mL e completar o volume com álcool metílico.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de isotretinoína ($C_{20}H_{28}O_2$) nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

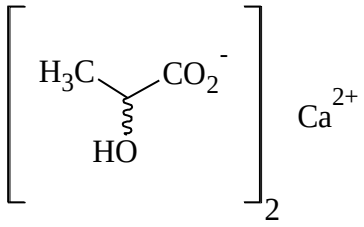
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LACTATO DE CÁLCIO

Calcii lactas



$C_6H_{10}CaO_6$; 218,22
lactato de cálcio; 00275
Sal de cálcio do ácido 2-hidroxipropanoico (1:2)
[*814-80-2*]

$C_6H_{10}CaO_6.xH_2O$
lactato de cálcio hidratado; 11414
Sal de cálcio do ácido 2(S)-hidroxipropanoico hidratado (1:2:?)
[*949014-28-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_{10}CaO_6$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou grânulos brancos. O lactato de cálcio penta-hidratado é eflorescente e torna-se anidro a 120 °C.

Solubilidade. O lactato de cálcio penta-hidratado é solúvel em água e praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do lactato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Titular 20 mL de uma solução da amostra (1:20) com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizar fenolftaleína SI como indicador. A neutralização é atingida utilizando, no máximo, 0,5 mL de hidróxido de sódio (0,45% como ácido láctico).

Ácidos graxos voláteis. Agitar cerca de 0,5 g com 1 mL de ácido sulfúrico e aquecer. Não há desprendimento de odor de ácidos graxos voláteis.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Distribuir 1 g a 2 g da amostra uniformemente em camada de, no máximo, 3 mm em um pesa-filtro adequado. Dessecar a 120 °C, por quatro horas. A perda de água é de: penta-hidratado, 20,0% a 30,0%; tri-hidratado, 15,0% a 20,0%; monoidratado 5,0% a 8,0% e a forma anidra, no máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, uma quantidade da amostra que contenha o equivalente a cerca de 0,35 g de lactato anidro. Dissolver em 150 mL de água acidificada com 2 mL de ácido clorídrico diluído. Sob agitação (de preferência em agitador magnético), adicionar cerca de 30 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV. Adicionar 15 mL de hidróxido de sódio SR, 0,3 g de indicador azul de hidroxinaftol e continuar a titulação até a viragem ao azul. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 10,911 mg de $C_6H_{10}CaO_6$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

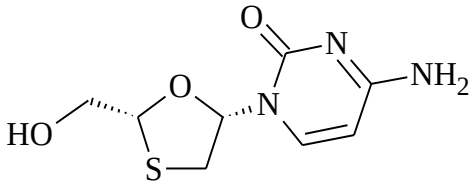
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Repositor de cálcio e repositor eletrolítico.

LAMIVUDINA
Lamivudinum



$C_8H_{11}N_3O_3S$; 229,26
lamivudina; 05152
4-Amino-1-[(2*R*,5*S*)-2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolan-5-il]- 2(1*H*)-pirimidona
[*134678-17-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_{11}N_3O_3S$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco a branco-amarelado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool metílico e em álcool etílico. Facilmente solúvel em ácido clorídrico 0,1 *M* e hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 176 ºC a 178 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: –135 a –146, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,8% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de lamivudina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra, obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo em 270 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com hidroxipropilbetaciclodextrina (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetato de amônio 0,1 *M* e álcool metílico (95:5).

Solução (1): dissolver 15 mg da amostra em *Fase móvel* e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução (1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a área sob o pico principal, não é mais do que 1,0% da área total sob os picos obtidos. Não considerar os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de amostra e dissolver em água. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir sucessivamente, em água, até concentração de 0,0015% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 270 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_8H_{11}N_3O_3S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 277 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Tampão acetato pH 3,8: dissolver 1,9 g de acetato de amônio em 900 mL de água, ajustar o pH em 3,8 ± 0,2 com ácido acético glacial e completar o volume para 1000 mL.

Fase móvel: mistura de *Tampão acetato pH 3,8* e álcool metílico (95:5).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 20 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver com *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 20 mg de lamivudina SQR para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver com *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_8H_{11}N_3O_3S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antirretroviral.

LAMIVUDINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_8H_{11}N_3O_3S$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,15 g de lamivudina para gral, adicionar 10 mL de álcool metílico, misturar e filtrar. Evaporar o filtrado até resíduo e dessecar em estufa, a 40 ºC, durante duas horas. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Lamivudina*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra, obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 270 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, 30 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 100 mL contendo 70 mL de água e agitar até desintegração total do comprimido. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* a partir de "Diluir até concentração...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água; 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 270 nm **(5.2.14)**, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}N_3O_3S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de lamivudina SQR na concentração de 0,0015% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_{11}N_3O_3S$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,15 g de lamivudina para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de água, deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir até concentração de 0,0015% (p/v) utilizando água como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 270 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}N_3O_3S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Lamivudina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,2 g de lamivudina para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL da *Fase móvel*. Agitar mecanicamente por 10 minutos e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar e filtrar. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_8H_{11}N_3O_3S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

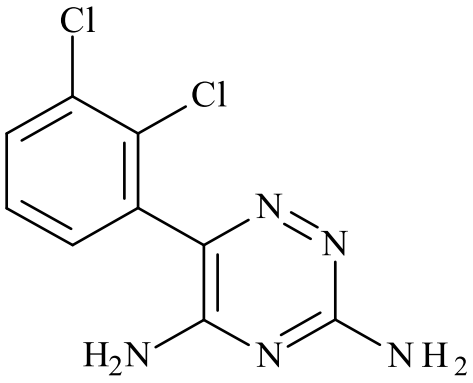
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LAMOTRIGINA

Lamotriginum



$C_9H_7Cl_2N_5$; 256,09
lamotrigina; 05153
6-(2,3-Diclorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina
[*84057-84-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_9H_7NCl_2N_5$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 216 °C a 218 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de lamotrigina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 370 nm, de solução a 0,002% (p/v) em ácido clorídrico 0,01 *M*, há máximo em 269 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de lamotrigina SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e dimetilformamida (16:3,5:0,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 1,0 mg/mL em álcool metílico.

Solução (2): solução de lamotrigina SQR a 1,0 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm) ou expor a placa a vapores de iodo. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 279 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de trietilamina a 0,3% (v/v), com pH ajustado para 4,0 com ácido fosfórico a 10% (v/v), e álcool metílico (62:38).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em álcool metílico para obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de lamotrigina SQR em álcool metílico para obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 5000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_9H_7NCl_2N_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticonvulsivante.

LAMOTRIGINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_9H_7Cl_2N_5$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 10 mg de lamotrigina. Prosseguir conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Lamotrigina*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método de *Doseamento* da monografia de *Lamotrigina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Utilizar quantidade de pó equivalente a 25 mg de lamotrigina e transferir para balão volumétrico de 50 mL com auxílio de 30 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, filtrar e homogeneizar. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_9H_7Cl_2N_5$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

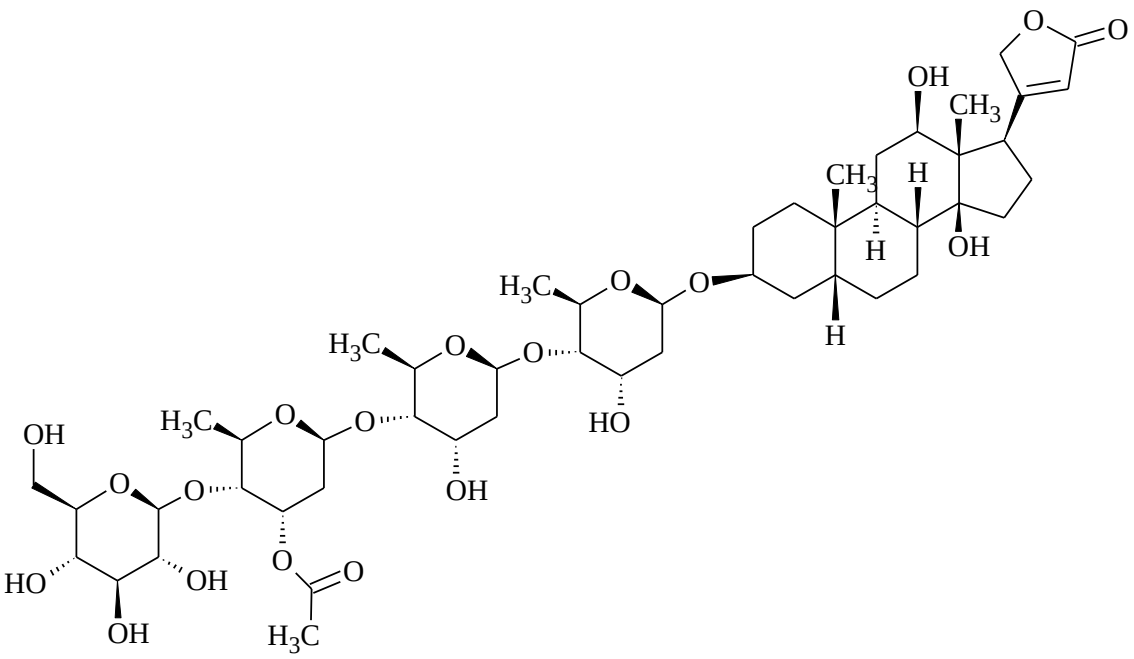
Em recipientes bem fechados e temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LANATOSÍDEO C

Lanatosidum C



$C_{49}H_{76}O_{20}$; 985,13
lanatosídeo C; 05156
(3*β*,5*β*,12*β*)-3-[(*O*-*β*-D-Glicopiranosil-(1→4)-*O*-3-*O*-acetil-2,6-didesoxi-*β*-D-*ribo*-hexopiranosil-(1→4)-*O*-2,6-didesoxi-*β*-D-ribo-hexopiranosil-(1 → 4)-2,6-didesoxi-β-D-ribo-hexopiranosil)oxi]-12,14-di-hidroxi-card-20(22)-enolídeo
[*17575-22-3*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{49}H_{76}O_{20}$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou levemente amarelo, higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, em dioxano e em piridina.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +32,0 a +35,5, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2% (p/v) em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de lanatosídeo C SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

C. Dissolver 0,5 mg da amostra em 0,2 mL de álcool etílico a 60% (v/v). Adicionar 0,1 mL de ácido 3,5-dinitrobenzoico a 2% (p/v) em álcool etílico e 0,1 mL de hidróxido de sódio 2 *M*. Desenvolve-se coloração violeta.

D. Dissolver 5 mg da amostra em 5 mL de ácido acético glacial e adicionar 0,05 mL de cloreto férrico SR. Adicionar, cuidadosamente, sem agitação, 2 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso. Um anel castanho não-avermelhado se desenvolve na interface e uma coloração verde-amarelada, que muda para azul-esverdeada, se difunde a partir do anel.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 2% (p/v) em álcool metílico é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de tolueno, álcool etílico, cloreto de metileno e água (60:30:20:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 20 mg/mL em álcool metílico.

Solução (2): solução da amostra a 2 mg/mL em álcool metílico.

Solução (3): solução de lanatosídeo C SQR a 2 mg/mL em álcool metílico.

Solução (4): solução de lanatosídeo C SQR a 0,3 mg/mL em álcool metílico.

Solução (5): solução de lanatosídeo C SQR a 0,2 mg/mL em álcool metílico.

Solução (6): solução de lanatosídeo C SQR a 0,1 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido sulfúrico a 5% (v/v) em álcool etílico. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, nenhuma mancha secundária é mais intensa do que a mancha principal, obtida no cromatograma com a *Solução (4)* (1,5%). No máximo, três manchas secundárias são mais intensas do que a mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (6)* (0,5%) e, no máximo, uma dessas manchas é mais intensa do que a mancha principal obtida com a *Solução (5)* (1,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra, em estufa a 105 ºC, sob pressão reduzida, sobre pentóxido de fósforo, até peso constante. No máximo, 7,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,1 g da amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de amostra e dissolver em álcool etílico. Diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir em álcool etílico até concentração de 0,005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. A 5 mL de cada solução diluída, adicionar 3 mL de picrato de sódio alcalino SR e deixar em repouso, em banho de água, à temperatura entre 19 ºC e 21 ºC, por 40 minutos, ao abrigo da luz. Medir as absorvâncias das soluções em 484 nm, utilizando mistura de 5 mL de álcool etílico e 3 mL de solução de picrato de sódio alcalino SR para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{49}H_{76}O_{20}$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes de vidro bem fechados, protegidos da luz e estocados em temperatura inferior a 10 ºC.

ROTULAGEM

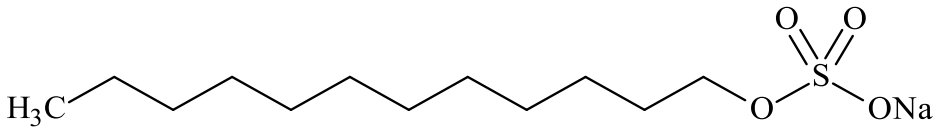
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Glicosídeo cardiotônico.

LAURILSULFATO DE SÓDIO

Natrii laurilsulfas



$C_{12}H_{25}NaO_4S$; 288,38
laurilsulfato de sódio; 05178
Sal de sódio do éster monododecílico do ácido sulfúrico (1:1)
[*151-21-3*]

O laurilsulfato de sódio é uma mistura de alquilsulfatos de sódio constituída principalmente pelo sal de sódio do éster monododecílico do ácido sulfúrico (1:1). Contém, no mínimo, 85,0% de alquilsulfatos de sódio, expressos em $C_{12}H_{25}NaO_4S$, em relação à substância dessecada**.** O teor total de cloreto de sódio e de sulfato de sódio é, no máximo, 8,0%.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou cristal, branco ou ligeiramente amarelado. Leve odor característico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água formando solução ou mistura opalescente, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,1 g da amostra em 10 mL de água e agitar. Forma-se espuma abundante.

B. Misturar 0,1 mL da solução obtida no teste **A.** de *Identificação* com 0,1 mL de cloreto de metiltionínio a 0,1% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico diluído SR. Acrescentar 2 mL de cloreto de metileno e agitar. Desenvolve-se coloração azul intensa na camada do cloreto de metileno.

C. Misturar cerca de 10 mg da amostra com 10 mL de álcool etílico. Aquecer até ebulição em banho-maria, agitando frequentemente. Filtrar imediatamente e evaporar o álcool etílico. Dissolver o resíduo em 8 mL de água, acrescentar 3 mL de ácido clorídrico SR, evaporar a solução até metade do seu volume e deixar esfriar. Separar por filtração os álcoois graxos solidificados. Ao filtrado, acrescentar 1 mL de cloreto de bário a 6,1% (p/v). Forma-se precipitado branco cristalino.

D. Uma solução da amostra a 10% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

E. Uma solução da amostra a 10% (p/v) acidificada com ácido clorídrico e fervida brandamente durante 20 minutos satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Alcalinidade. Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra e dissolver em 100 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar 0,1 mL de vermelho de fenol SI e titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Devem ser gastos, no máximo, 0,6 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV.

Limite de álcoois não esterificados. Pesar, com exatidão, cerca de 10 g da amostra e dissolver em 100 mL de água, acrescentar 100 mL de álcool etílico e extrair a solução três vezes com 50 mL de pentano cada. Se necessário, adicionar cloreto de sódio para facilitar a separação das duas fases. Reunir as fases orgânicas e lavar três vezes com 50 mL de água cada. Eliminar a água da solução orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrar e evaporar em banho de água até eliminar todo o solvente. Aquecer o resíduo a 105 °C durante 15 minutos e arrefecer. A massa do resíduo deve ser de, no máximo, 4,0%.

Limite de álcoois totais. Pesar, com exatidão, cerca de 5g da amostra para um frasco de Kjeldahl de 800 mL. Adicionar 150 mL de água, 50 mL de ácido clorídrico e algumas pérolas de ebulição. Acoplar o frasco de Kjeldahl em um condensador de refluxo. Aquecer cuidadosamente para evitar formação excessiva de espuma e ferver por quatro horas. Arrefecer, lavar o condensador com éter etílico, coletando o éter etílico para o frasco, e transferir o conteúdo para um funil de separação. Lavar o frasco duas vezes com éter etílico e adicionar as lavagens ao funil de separação. Extrair a solução com duas porções de 75 mL de éter etílico. Em um béquer previamente pesado, reunir os extratos combinados de éter, evaporar em banho-maria e secar o resíduo a 105 °C por 30 minutos. Resfriar e pesar. O resíduo representa o total de álcoois. A massa do resíduo deve ser de, no mínimo, 59,0% da massa de amostra utilizada.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. Pesar, com exatidão, cerca de 1g de amostra. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Alquilsulfatos de sódio. Pesar, com exatidão, cerca de 0,115 g da amostra, dissolver em 20 mL água, aquecer se necessário. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Retirar alíquota de 20 mL dessa solução e transferir para erlenmeyer de 125 mL, adicionar 15 mL de clorofórmio e 10 mL de brometo de dimídio-azul de sulfano SR. Titular com cloreto de benzetônio 0,004 *M* SV, com agitação enérgica, até mudança da cor rosa da camada clorofórmica para azul-acinzentado. Antes de cada adição do titulante, verificar a completa separação das camadas. Cada mL de cloreto de benzetônio 0,004 *M* SV equivale a 1,154 mg de alquilsulfatos de sódio, calculados como $C_{12}H_{25}NaO_4S$.

Cloreto de sódio. Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 50 mL de água. Adicionar ácido nítrico diluído (1:20), gota a gota, até a solução apresentar-se neutra ao papel tornassol. Adicionar 2 mL de cromato de potássio SR e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de cloreto de sódio.

Sulfato de sódio. Pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra e transferir para um béquer de 250 mL. Adicionar 35 mL de água, aquecer para dissolver. Acrescentar à solução aquecida 2 mL de ácido nítrico *M*, misturar e adicionar 50 mL de álcool etílico. Aquecer a solução até a fervura. Adicionar lentamente, sob agitação, 10 mL de solução de nitrato de chumbo a 3,31% (p/v). Cobrir o béquer com vidro de relógio, ferver brandamente por cinco minutos e deixar em repouso. Se o sobrenadante

estiver turvo, deixar em repouso mais 10 minutos, aquecer até fervura e deixar novamente em repouso. Quando a solução estiver quase fervendo, decantar o máximo de líquido possível através de papel filtro quantitativo de 9 cm de diâmetro, faixa preta, filtração rápida, isento de cinzas. Lavar quatro vezes por decantação, utilizando cada vez 50 mL de álcool etílico a 50% (v/v) e levar a mistura à fervura. Transferir o papel filtro para o béquer original e imediatamente adicionar 30 mL de água, 20 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV e 1 mL de tampão cloreto de amônio pH 10,7. Aquecer até dissolver o precipitado. Aguardar resfriamento. Adicionar 0,2 mL de negro de eriocromo T SI e titular com sulfato de zinco 0,05 *M* SV. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* equivale a 7,102 mg de sulfato de sódio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

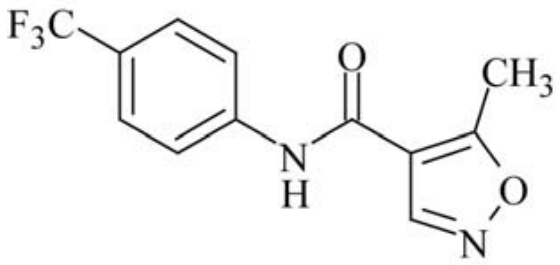
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Tensoativo aniônico.

LEFLUNOMIDA
Leflunomidum



$C_{12}H_9F_3N_2O_2$; 270,21
leflunomida; 05192
5-Metil-*N*-[4-(trifluormetil)fenil]-4-isoxazolcarboxamida
[*75706-12-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_9F_3N_2O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool metílico, em álcool etílico e em álcool isopropílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 165 ºC a 167 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de leflunomida SQR.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 370 nm, da solução amostra a 0,001% (p/v) em mistura de acetonitrila e água (50:50), há máximo em 260 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de leflunomida SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno e acetato de etila (97:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 0,1 mg/mL de amostra em acetato de etila.

Solução (2): solução a 0,1 mg/mL de leflunomida SQR em acetato de etila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm) ou expor a placa a vapores de iodo. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

D. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa, a 60 ºC, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno compactada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 ºC, fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (50:50).

Solução amostra: transferir 20 mg da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 60 mL de *Fase móvel*. Agitar, se necessário, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel* (injetar essa solução imediatamente ou em, no máximo, 24 horas após a preparação, se a mesma for mantida sob refrigeração).

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de leflunomida SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 40 µg/mL (injetar essa solução imediatamente ou em, no máximo, 24 horas após a preparação, se a mesma for mantida sob refrigeração).

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 3000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{12}H_9F_3N_2O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz e em refrigerador.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antirreumático.

LEFLUNOMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_9F_3N_2O_2$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade de pó equivalente a 10 mg de leflunomida e transferir para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de 60 mL de mistura de acetonitrila e água (50:50). Agitar por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de acetonitrila e água (50:50). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 370 nm, dessa solução, há máximo em 260 nm, idêntico ao observado no espectro de leflunomida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade de pó equivalente a 5 mg de leflunomida, dissolver em 50 mL de acetato de etila, homogeneizar e filtrar. Prosseguir conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Leflunomida*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida em *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água desaerada, 1000 mL, para comprimidos contendo 10 ou 20 mg.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar imediatamente em filtro com porosidade 0,45 µm e diluir, se necessário, com o *Meio de dissolução*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 260 nm **(5.2.14)**, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9F_3N_2O_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de leflunomida SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente. Acetonitrila pode ser utilizada para dissolver a leflunomida SQR em volume que não ultrapasse a 2% na solução final.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_9F_3N_2O_2$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método de *Doseamento* da monografia de *Leflunomida*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de leflunomida para balão volumétrico de 50 mL com auxílio de 30 mL de *Fase móvel*. Agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9F_3N_2O_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

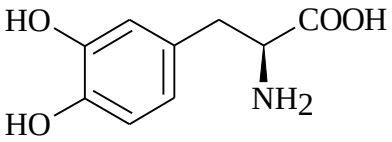
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

LEVODOPA

Levodopum



$C_9H_{11}NO_4$; 197,19
levodopa; 05249
3-Hidroxi-L-tirosina
[*59-92-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_9H_{11}NO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em ácido clorídrico *M* e ligeiramente solúvel em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica **(5.2.8)**: -1,27° a -1,34°, em relação à substância dessecada. Dissolver 0,2 g da amostra e 5 g de metenamina em 10 mL de ácido clorídrico *M*. Diluir para 25 mL com o mesmo ácido e homogeneizar. Deixar a solução ao abrigo da luz (25 °C) por três horas antes de realizar a medida.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de levodopa SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,003% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo em 280 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de levodopa SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0. Determinar em suspensão a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono, obtida após 15 minutos de agitação da amostra com o solvente.

Absorção de luz. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,003% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo em 280 nm. A absortividade específica, A(1%, 1 cm), é de 137 a 147, em 280 nm, em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando placa de celulose, como suporte, e mistura de ácido acético glacial, água e álcool butílico, (25:25:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de ácido fórmico anidro e diluir para 10 mL com álcool metílico. Preparar extemporaneamente.

Solução (2): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução (3): dissolver 30 mg de tirosina em 1 mL de ácido fórmico anidro e diluir para 100 mL com álcool metílico. Misturar 1 mL desta solução com 1 mL da *Solução (1)*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar sob ar quente. Nebulizar com uma mistura recentemente preparada de cloreto férrico SR e ferricianeto de potássio SR (1:1). Examinar imediatamente. Qualquer mancha secundária, diferente da mancha principal, obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%). O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar, acima da mancha principal, uma mancha distinta, mais intensa que a mancha do cromatograma obtido com a *Solução (2)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Preparar o padrão utilizando 2 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por quatro horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,18 g da amostra e dissolver em 5 mL de ácido fórmico anidro. Aquecer se necessário. Deixar esfriar e acrescentar 25 mL de ácido acético glacial e 25 mL de dioxano. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando 0,1 mL de cloreto de metilrosanilínio SI, até mudança de cor para verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 19,719 mg de $C_9H_{11}NO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Realizar o procedimento ao abrigo da luz e manter as soluções à temperatura de 10 °C até a injeção. 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 ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Diluente: mistura de ácido trifluoracético e água (1:1 000).

Fase móvel: mistura do *Diluente* e tetraidrofurano (97:3).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Diluente*, de modo a obter solução a 0,4 mg/mL

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de levodopa SQR em *Diluente*, de modo a obter solução a 0,4 mg/mL.

Solução de resolução: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de levodopa SQR e levotirosina SQR em *Diluente*, para obter solução a 10 µg/mL de cada substância.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para a levodopa e 1,3 para a levotirosina. A resolução entre os picos de levotirosina e levodopa é, no mínimo, 3,0. O fator de cauda para o pico da levodopa é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_9H_{11}NO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

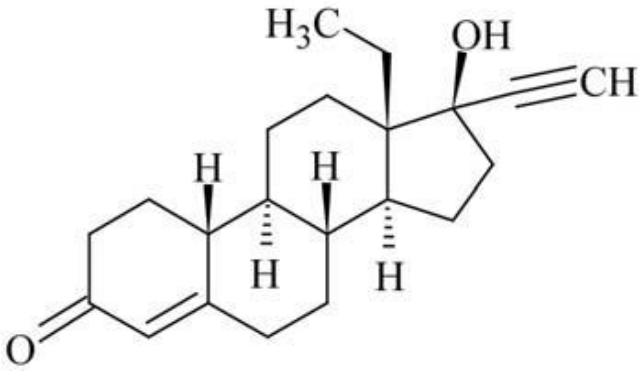
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiparkinsoniano.

LEVONORGESTREL

Levonorgestrelum



$C_{21}H_{28}O_2$; 312,45
levonorgestrel; 05279
(17*α*)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinorpregn-4-en-20-in-3-ona
[*797-63-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{21}H_{28}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 232 °C a 239 °C. A faixa entre o início e o fim da fusão não excede 4 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -30 a -35 . Determinar em solução a 2% (p/v) em clorofórmio.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de levonorgestrel SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetona e clorofórmio (20:80), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,5 g da amostra em clorofórmio e diluir para 25 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 2,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com clorofórmio. Transferir 2,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (3): transferir 10 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com clorofórmio.

Solução (4): dissolver 5 mg de levonorgestrel SQR e 5 mg de etinilestradiol SQR em clorofórmio e diluir para 50 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido fosfomolíbdico a 10% (p/v) em álcool *n*-propílico. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por 15 minutos e examinar imediatamente. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%) e, no máximo, duas dessas manchas são mais intensas que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,2%). O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (4)* apresentar duas manchas nitidamente separadas.

Limite de etinila. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*. Cada mililitro de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 2,503 mg de etinila. No mínimo, 7,81% e, no máximo, 8,18%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por cinco horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra e dissolver em 45 mL de tetraidrofurano. Adicionar 10 mL de nitrato de prata a 10% (p/v) em água. Após um minuto, titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 31,245 mg de $C_{21}H_{28}O_2$.

B. Por *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra e dissolver em álcool etílico. Diluir, sucessivamente, em álcool etílico, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 241 nm, utilizando álcool etílico para o ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{21}H_{28}O_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoncepcional.

LEVONORGESTREL E ETINILESTRADIOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de levonorgestrel ($C_{21}H_{28}O_2$) e de etinilestradiol ($C_{20}H_{24}O_2$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:99), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 15 comprimidos e extrair com 30 mL de acetona. Filtrar e evaporar até secura. Dissolver o resíduo obtido em 1 mL de clorofórmio.

Solução (2): preparar solução a 0,75 mg/mL de levonorgestrel SQR em clorofórmio.

Solução (3): preparar solução a 0,45 mg/mL de etinilestradiol SQR em clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). As manchas referentes ao levonorgestrel e ao etinilestradiol obtidas com a *Solução (1)* correspondem em posição e cor àquelas principais obtidas com as *Soluções (2)* e *(3)*. Nebulizar com ácido *p*-toluenossulfônico a 2% (p/v) em água. Aquecer a 110 °C por 10 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). As manchas referentes ao levonorgestrel e etinilestradiol aparecem com coloração azul.

B. Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: solução de polissorbato 80 a 0,0005% (p/v) em água, 500 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 247 nm (para determinação de levonorgestrel), e de detector espectrofluorométrico com comprimentos de onda de excitação a 285 nm e de emissão a 310 nm (para determinação de etinilestradiol); coluna de 150 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (60:40).

Solução amostra: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar em filtro de polivinilideno, descartando os primeiros mililitros. Para comprimidos não revestidos, retirar alíquotas do meio de dissolução nos tempos de 30 minutos (tomando o cuidado de repor o volume de cada cuba) e 60 minutos. Para drágeas, realizar este procedimento somente no tempo de 60 minutos.

Solução padrão: preparar solução contendo levonorgestrel SQR e etinilestradiol SQR em *Meio de dissolução*, de modo a obter concentrações próximas àquelas de levonorgestrel e etinilestradiol, respectivamente, da *Solução amostra*.

Injetar replicatas de 100 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para etinilestradiol e 1,0 para levonorgestrel. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 100 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de levonorgestrel ($C_{21}H_{28}O_2$) e etinilestradiol ($C_{20}H_{24}O_2$) dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: para comprimidos não revestidos, no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de levonorgestrel ($C_{21}H_{28}O_2$) e 75% (Q) da quantidade declarada de etinilestradiol ($C_{20}H_{24}O_2$) se dissolvem em 60 minutos. Para drágeas, no mínimo, 60% (Q) da quantidade declarada de levonorgestrel ($C_{21}H_{28}O_2$) e 60% (Q) da quantidade declarada de etinilestradiol ($C_{20}H_{24}O_2$) se dissolvem em 60 minutos. Quando o revestimento de comprimidos não possuir a função de modificar a liberação dos ativos, pode ser adotada a mesma tolerância recomendada para comprimidos não revestidos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 215 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (51:49).

Diluente: mistura de água e acetonitrila (40:60).

Solução amostra: pesar e pulverizar de 20 a 30 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 250 µg de levonorgestrel para tubo de centrífuga e adicionar 4 mL do *Diluente*. Aquecer a 60 °C por 25 minutos, agitar e deixar em banho de ultrassom por mais 25 minutos. Esfriar, centrifugar e usar o sobrenadante límpido.

Solução padrão: preparar solução de levonorgestrel SQR e etinilestradiol SQR no *Diluente* contendo, respectivamente, 0,625 mg e 0,125 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o *Diluente*, obtendo solução a 62,5 µg/mL de levonorgestrel e 12,5 µg/mL de etinilestradiol.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de levonorgestrel ($C_{21}H_{28}O_2$) e etinilestradiol ($C_{20}H_{24}O_2$) nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

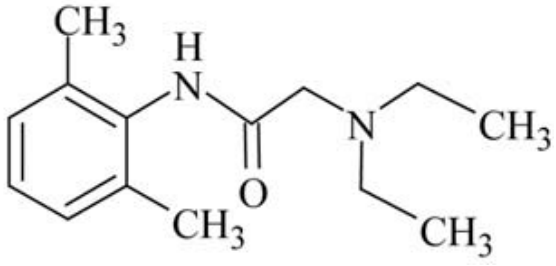
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LIDOCAÍNA
Lidocainum



$C_{14}H_{22}N_2O$; 234,34
lidocaína;05313
2-(Dietilamino)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida
[*137-58-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{14}H_{22}N_2O$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, muito solúvel em álcool etílico. Solúvel em ácido clorídrico diluído.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 66 ºC a 70 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B., C.** *e* **D.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A**.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de lidocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver, com aquecimento, 0,2 g da amostra em mistura de 0,5 mL de ácido clorídrico diluído e 10 mL de água. Adicionar 10 mL de ácido pícrico a 1% (p/v). O precipitado, lavado com água e dessecado, apresenta temperatura de fusão **(5.2.2)** em torno de 230 °C, com decomposição.

C. Em cerca de 5 mg da amostra, adicionar 0,5 mL de ácido nítrico fumegante. Evaporar até secura em banho-maria, esfriar e dissolver o resíduo em 5 mL de acetona. Adicionar 0,2 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M*. Desenvolve-se coloração verde.

D. Dissolver cerca de 0,1 g da amostra em 1 mL de álcool etílico e adicionar 0,5 mL de solução a 10% (p/v) de nitrato de cobalto. Forma-se precipitado verde-azulado.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 3 mL de ácido clorídrico diluído e diluir para 10 mL com água. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Limite de 2,6-dimetilanilina. Dissolver 0,25 g da amostra em álcool metílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. A 2 mL da solução anterior, adicionar 1 mL de *p*-dimetilaminobenzaldeído a 1% (p/v) em álcool metílico e 2 mL de ácido acético glacial. Deixar em repouso por 10 minutos. Qualquer coloração amarela na solução em exame não é mais intensa do que a de uma solução referência, preparada simultaneamente, utilizando 2 mL de 2,6-dimetilanilina a 0,00025% (p/v) em álcool metílico. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,4 g da amostra em mistura de 3 mL de ácido nítrico e 12 mL de água e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,0035% (35 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfato (5.3.2.2). Dissolver 0,5 g da amostra em 5 mL de álcool etílico e diluir para 25 mL com água. No máximo, 0,1% (1000 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

Água (5.2.20.1). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,2 g da amostra, dessecada, sob pressão reduzida, sobre sílica-gel por 24 horas, em 50 mL de ácido acético glacial e agitar até completa dissolução. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* equivale a 23,434 mg de $C_{14}H_{22}N_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

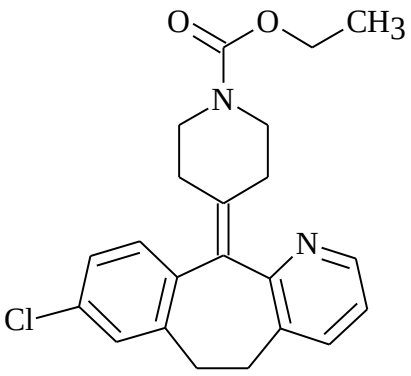
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local.

LORATADINA

Loratadinum



$C_{22}H_{23}ClN_2O_2$; 382,89
loratadina; 05416
Éster etílico do ácido 4-(8-cloro-5,6-di-hidro-11*H*benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-ilideno)-1-piperidinacarboxílico
[*79794-75-5*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 102,0% de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 132 ºC a 137 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de loratadina SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos não forem idênticos, dissolver as substâncias, separadamente, em acetona e evaporar até secura. Obter novos espectros com os resíduos.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas.

Nota*: *de acordo com a rota de síntese, realizar o Teste 1 ou o Teste 2. O Teste 2 é recomendado se o 4,8-dicloro-6,11-di-hidro-5H-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-b]piridin-11-ona é uma substância relacionada potencial.

Teste 1. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupos octilsilano (5 µm), mantida à temperatura entre 25 °C e 35 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio dibásico anidro 0,01 *M* álcool metílico e acetonitrila (7:6:6). Ajustar com ácido fosfórico para um pH de 7,2.

Diluente: transferir 400 mL de ácido clorídrico 0,05 *M* e 80 mL de fosfato de potássio dibásico anidro 0,6 *M* para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e acetonitrila (1:1). Homogeneizar.

Solução (1): solução a 0,8 µg/mL de loratadina SQR em *Diluente*.

Solução (2): transferir, quantitativamente, cerca de 40 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver, deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com *Diluente*.

Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,79 para 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6] ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-il)-1-piperidinacarboxilato de etila e 1,00 para loratadina. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 4,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL de cada solução, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos da *Solução (2)* e a sob o pico principal da *Solução (1)*. Calcular a porcentagem de cada impureza em relação à área sob o pico principal da *Solução (1)* e os fatores de resposta para as impurezas (o fator de resposta para 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6] ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-il)-1-piperidinacarboxilato de etila é 0,25). No máximo, 0,2% de 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-il)-1-piperidina-carboxilato de etila, 0,1% de impurezas individuais e 0,3% de impurezas totais.

Teste 2. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm e coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupos octadecilsilano (5 µm), fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Eluente A: dissolver 0,96 g de 1-pentanossulfonato de sódio monoidratado em 900 mL de água. Ajustar com ácido fosfórico a 10% (v/v) para pH 3,00 ± 0,05 e diluir com água para 1000 mL.

Eluente B: utilizar acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0	75	25	isocrática
0 – 20	75 → 50	25 → 50	gradiente linear
20 – 30	50 → 40	50 → 60	gradiente linear
30 – 35	40 → 30	60 → 70	gradiente linear
35 – 45	30	70	isocrática
45 – 50	75	25	isocrática

Solução (1): dissolver quantidades, pesadas com exatidão, de loratadina SQR, 8-cloro-6,11-di-hidro-11 -(4-piperidilideno)-5*H*-benzo[5,6]cicloepta[1,2-*b*]piridina SQR (loratadina composto relacionado A SQR) e 8-cloro-6,11-di-hidro-11-(*N*-metil-4-piperinilideno)-5*H*-benzo[5,6]cicloepta[1,2-*b*] piridina SQR (loratadina composto relacionado B SQR) em álcool metílico a fim de obter solução a 0,1 mg/mL de cada composto. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, acrescentar 2 mL do *Eluente A* e completar o volume com álcool metílico.

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 10 mL. Acrescentar 2 mL de álcool metílico e agitar até dissolução. Acrescentar 2 mL do *Eluente A* e completar o volume com álcool metílico.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (1).* A resolução entre o pico de loratadina composto relacionado A e loratadina composto relacionado B é, no mínimo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas sob o pico de loratadina nas replicatas é, no máximo, 10,0%. Os tempos de retenção relativos e fatores de resposta estão descritos na tabela a seguir. Para impurezas desconhecidas, o fator de resposta é 1,00.

Composto relacionado	***Tempo de retenção relativo***	***Fator de resposta***
Loratadina composto relacionado A	0,50	1,00
Loratadina composto relacionado B	0,53	0,89
8-Cloro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-ona	0,70	0,60
8-Cloro-6,11-di-hidro-11-[*N*-metil-4-piperidinil]11-hidroxi-5*H* benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*] piridina	0,75	0,46
4,8-Dicloro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-ona	1,23	0,92
8-Cloro-6,11-di-hidro-11-[*N*-etoxicarbonil-4-piperidinil]-11-hidroxi-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridina	1,60	0,42
4,8-Dicloro-6,11-di-hidro-11-[*N*-etoxicarbonil-4-piperidilideno]-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridina	1,83	1,08
Loratadina	1,00	1,00

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. No máximo, 0,1% de loratadina composto relacionado A, 0,1% de loratadina composto relacionado B, 0,1% de cada impureza individual e 0,3% de impurezas totais.

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 100 °C, até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,3 g da amostra em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 38,289 mg de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura entre 25 °C e 35 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio dibásico anidro 0,01 *M*, álcool metílico e acetonitrila (7:6:6). Ajustar com ácido fosfórico para pH de 7,2.

Diluente: transferir 400 mL de ácido clorídrico 0,05 *M* e 80 mL de fosfato de potássio dibásico anidro 0,6 *M* para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e acetonitrila (1:1). Homogeneizar.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 40 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver, deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com *Diluente*. Homogeneizar.

Solução padrão: solução de loratadina SQR a 0,4 mg/mL em *Diluente*.

Injetar replicatas de 15 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 15 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico.

LORATADINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de loratadina ($C_{22}H_{23}CLN_2O_2$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de éter etílico e dietilamina (40:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir quantidade do pó dos comprimidos equivalente a cerca de 20 mg de loratadina para um tubo de centrífuga. Adicionar 5 mL de uma mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1), agitar por 30 minutos e centrifugar.

Solução (2): solução a 4 mg/mL de loratadina SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 280 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de loratadina SQR na concentração de 0,001% (p/v) preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia *de Loratadina*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução amostra* descrita em *Doseamento* desta monografia (comprimidos).

Solução (2): transferir 5 mL da *Solução padrão* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Diluir esta solução até obter concentração de 0,8 µg/mL de loratadina SQR.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (1)*. Os tempos de retenção relativos são 0,79 para 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2*b*]piridin-11-il)-1-piperidinacarboxilato de etila e 1,0 para loratadina. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob o pico de loratadina é, no máximo, 4,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. No máximo, 0,2% de 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*] piridin-11-il)-1-piperidinacarboxilato de etila. No máximo, 0,1% de qualquer outra impureza individual. A soma de todas as impurezas, exceto o 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hidro-5*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridin-11-il)-1- piperidinacarboxilato de etila, é, no máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* da monografia *de Loratadina*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 100 mg de loratadina para balão volumétrico de 250 mL. Acrescentar 100 mL de ácido clorídrico 0,05 *M* e agitar por 40 minutos. Acrescentar 75 mL de uma mistura de álcool metílico e acetonitrila (1:1) e homogeneizar. Acrescentar 20 mL de fosfato de potássio dibásico anidro 0,6 *M* e homogeneizar por cinco minutos. Completar o volume com mistura de álcool metílico e acetonitrila (1:1) e homogeneizar.

Injetar replicatas de 15 µL da *Solução padrão*. O fator de retenção é, no mínimo, 3,5. O fator de cauda é, no máximo, 1,7. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 15 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados à temperatura de 2 ºC a 30 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LORATADINA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 94,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de loratadina ($C_{22}H_{23}ClN_2O_2$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de éter etílico e dietilamina (40:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume da solução oral equivalente a 10 mg de loratadina para um tubo de centrífuga. Adicionar 10 mL de hidróxido de sódio 0,2 *M* e 2 mL de cloreto de metileno. Agitar por 10 minutos. Centrifugar. Utilizar a fase orgânica.

Solução (2): solução de loratadina SQR a 5 mg/mL em cloreto de metileno.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,5 a 3,1.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupos octilsilano (5 μm), mantida à temperatura entre 30 °C e 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: solução de laurilsulfato de sódio a 0,015 *M* em uma mistura de água e acetonitrila (1:1). Ajustar o pH em 2,6 ± 0,1 com ácido fosfórico.

Diluente: mistura de *Fase móvel* e água (2:1).

Solução (1): solução de loratadina SQR a 0,002 mg/mL em *Diluente*.

Solução (2): transferir 5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Diluente*.

Solução (3): transferir volume da solução oral contendo o equivalente a 20 mg de loratadina para um frasco de vidro com tampa. Adicionar 1 mL de uma solução de peróxido de hidrogênio a 3% (p/v) e homogeneizar. Tampar o frasco e aquecer a 65 °C por 18 a 24 horas. Resfriar até temperatura ambiente. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Diluente*.

Solução (4): transferir volume da solução oral contendo o equivalente a 5 mg de loratadina para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Diluente*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,70 para 4-(8-cloro-5,6-di-hidro-4-(hidroximetil)-11*H*benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridina-11-ilideno)-1-piperidinacarboxilato de etila, 0,84 para 4-[8-cloro-5,6- di-hidro-2-(hidroximetil)-11*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridina-11-ilideno]-1-piperidinacarboxilato de etila e 1,0 para loratadina. A resolução entre os picos de loratadina e 4-[8-cloro-5,6-di-hidro-2-(hidroximetil)- 11*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridina-11-ilideno]-1-piperidinacarboxilato de etila é, no mínimo, 3,0. Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (1)*. O fator de cauda para o pico de loratadina está compreendido entre 0,7 e 1,1. Injetar replicatas de 50 µL da *Solução (2)*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob o pico de loratadina é, no máximo, 10,0%.

Procedimento: injetar 50 µL da *Solução (4)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. No máximo, 0,3% de 4-(8-cloro-5,6-di-hidro-4-(hidroximetil)-11*H*-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-*b*] piridina-11-ilideno)-1-piperidinacarboxilato de etila. No máximo, 0,3% de 4-(8-cloro-5,6-di-hidro-2-(hidroximetil)- 11*H*-benzo [5,6]ciclohepta[1,2-*b*]piridina-11-ilideno)- 1-piperidinacarboxilato de etila. No máximo, 0,2% de qualquer outra impureza individual e a soma de todas as impurezas é, no máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo fenila (10 µm), mantida à temperatura entre 20 °C e 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fosfato de potássio monobásico 0,05 M: transferir cerca de 6,8 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 1000 mL. Dissolver e completar o volume com água e homogeneizar. Ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *Fosfato de potássio monobásico 0,05 M* e acetonitrila (7:3).

Solução de padrão interno: solução de butilparabeno a 0,3 mg/mL em mistura de água e acetonitrila (7:3).

Solução amostra: transferir volume da solução oral contendo o equivalente a 5 mg de loratadina para balão volumétrico de 50 mL. Acrescentar 5 mL da *Solução de padrão interno* e completar o volume com mistura de água e acetonitrila (7:3). Homogeneizar.

Solução padrão: preparar solução de loratadina SQR a 1 mg/mL em acetonitrila. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e acrescentar 5 mL da *Solução de padrão interno* e 12 mL de água. Completar o volume com mistura de água e acetonitrila (7:3). Homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,78 para o butilparabeno e 1,0 para loratadina. A resolução entre loratadina e butilparabeno é, no mínimo, 1,9.

O fator de cauda é, no máximo, 1,6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à loratadina e ao butilparabeno. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ na solução oral a partir das respostas obtidas para a relação loratadina/butilparabeno com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LORATADINA E SULFATO DE PSEUDOEFEDRINA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 94,0% e, no máximo, 105,0% das quantidades declaradas de loratadina ($C_{22}H_{23}ClN_2O_2$) e sulfato de pseudoefedrina ($(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$).

IDENTIFICAÇÃO

A relação entre os tempos de retenção dos picos principais e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde à relação entre os tempos de retenção dos picos principais e do pico do padrão interno no cromatograma da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 247 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 μm), mantida em temperatura entre 20 °C e 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Solução A: dissolver 3 g de fosfato de amônio monobásico em uma mistura de água, álcool metílico e ácido fosfórico (150:110:1).

Fase móvel: mistura de *Solução A* e acetonitrila (60:40).

Solução de padrão interno: solução de butilparabeno a 0,1 mg/mL em *Fase móvel*.

Solução amostra: transferir volume da solução oral equivalente a 5 mg de loratadina para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 2 mL da solução obtida para balão volumétrico de 10 mL, acrescentar 1 mL de *Solução de padrão interno* e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 24 mg de sulfato de pseudoefedrina SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Acrescentar 10 mL de solução de loratadina SQR a 0,2 mg/mL em *Fase móvel* e 10 mL da *Solução de padrão interno*. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,4 para sulfato de pseudoefedrina, 0,6 para butilparabeno e 1,0 para loratadina. A resolução entre os picos de loratadina e butilparabeno é, no mínimo, 2,0. O fator de cauda é, no máximo, 1,6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à sulfato de pseudoefedrina,

butilparabeno e loratadina. Calcular as quantidades de $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$ e $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ na solução oral a partir das respostas obtidas para as relações sulfato de pseudoefedrina/butilparabeno e loratadina/butilparabeno com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

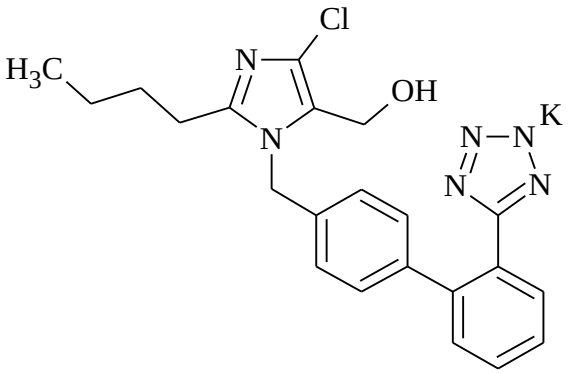
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

LOSARTANA POTÁSSICA

Losartanum kalicum



$C_{22}H_{22}ClKN_6O$; 461,01
losartana potássica; 05432
Sal de potássio de 2-butil-4-cloro-1-[[2'-(2*H*-tetrazol-5-il) [1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1*H*-imidazol-5-metanol (1:1)
[*124750-99-8*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água e em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de losartana potássica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em álcool metílico, há máximo de absorção idêntico ao observado no espectro de solução similar de losartana potássica SQR.

C. Satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de cicloexano e álcool isopropílico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo a gás provido de detector de ionização de chamas; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fenil-metilpolisiloxano (5:95), com espessura do filme de 1,5 μm; temperatura da coluna de acordo com os seguintes parâmetros: deixar a 50 °C durante cinco minutos e aumentar para 200 °C a 30 °C por minuto e manter durante cinco minutos. Manter as temperaturas do injetor e do detector a 220 °C. Utilizar hélio como gás de arraste a velocidade linear de cerca de 6 mL/minuto.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em dimetilformamida de modo a obter solução 50 mg/mL.

Solução padrão: preparar solução, em dimetilformamida, contendo 0,05 mg/mL de cicloexano e 0,05 mg/mL de álcool isopropílico.

Injetar replicatas de 1 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção são cerca de dois minutos para o álcool isopropílico e de quatro minutos para o cicloexano. A resolução entre os picos do cicloexano e do álcool isopropílico é, no mínimo, 4,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 8,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. As áreas sob os picos relativos ao cicloexano e álcool isopropílico obtidos na *Solução amostra* não devem ser superiores às áreas sob os picos relativos ao cicloexano e ao álcool isopropílico obtidos na *Solução padrão*. No máximo, 0,1% de cicloexano e 0,1% de álcool isopropílico.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna cromatográfica de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Eluente A: solução de ácido fosfórico a 0,1% (v/v) em água.

Eluente B: acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 25	75 → 10	25 → 90	gradiente linear
25 – 35	10	90	isocrática
35 – 45	10 → 75	90 → 25	gradiente linear
45 – 50	75	25	isocrática

Solução amostra: dissolver 30 mg da amostra em álcool metílico e diluir para 100 mL com o mesmo solvente, obtendo solução a 300 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de losartana potássica SQR e trifenilmetanol em álcool metílico e diluir quantitativamente para obter solução a 0,3 mg/mL e 0,002 mg/mL respectivamente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para a losartana e 1,9 (cerca de 20 minutos) para o trifenilmetanol. O fator de cauda para o pico da losartana é, no máximo, 1,6.

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas de todos os picos obtidos. A área de qualquer pico secundário é, no máximo, 0,2% da área total sob os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 0,5% da área total sob os picos obtidos. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,18 g da amostra e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente ou utilizando 1-naftolbenzeína SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 23,051 mg de $C_{22}H_{22}ClKN_6O$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna cromatográfica de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 35 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de solução de ácido fosfórico a 0,1% (v/v) em água e acetonitrila (60:40). Realizar os ajustes necessários.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em álcool metílico de modo a obter solução a 250 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de losartana potássica SQR em álcool metílico e diluir quantitativamente de modo a obter solução a 250 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 4000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{22}H_{22}ClKN_6O$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, à temperatura ambiente.

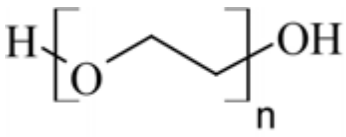
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo.

MACROGOL
Macrogolum



$H(OCH_2CH_2)_nOH$
macrogol; 05474
α-Hidro-*ω*-hidroxipoli(oxi-1,2-etanodi-il)
[*25322-68-3*]

Macrogol é um polímero de adição do óxido de etileno e água, representado pela fórmula acima, em que n é o número médio de grupos de óxido de etileno. O peso molecular médio é, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do valor nominal rotulado, quando esse for inferior a 1000; no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% do valor nominal rotulado, quando esse se encontrar entre 1000 e 7000; e, no mínimo, 87,5% e, no máximo, 112,5% do valor nominal rotulado quando esse for superior a 7000.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido ou levemente turvo, viscoso, incolor, levemente higroscópico e com leve odor característico ou sólido branco inodoro, de consistência cremosa, em forma de pó ou flocos que se dissolvem em água.

Solubilidade. Solúvel em água, em acetona, em álcool etílico, miscível com outros glicois e com hidrocarbonetos aromáticos, insolúvel em éter etílico e em hidrocarbonetos alifáticos.

Constantes físico-químicas.

Viscosidade **(5.2.7)**: determinar em viscosímetro capilar com tempo de escoamento de, no mínimo, 200 segundos e em temperatura mantida à (98,9 ± 0,3) °C. A viscosidade deve estar dentro dos limites estabelecidos na **Tabela 1,** de acordo com o peso molecular médio da amostra. Para amostras cujo peso molecular médio não esteja listado na tabela, calcular os limites por interpolação.

Tabela 1 – Limite de viscosidade para amostras de macrogol.

Peso molecular médio	***Faixa de viscosidade em centistokes***	***Peso molecular médio***	***Faixa de viscosidade em centistokes***
200	3,9 a 4,8	2200	43,0 a 56,0
300	5,4 a 6,4	2300	46,0 a 60,0
400	6,8 a 8,0	2400	49,0 a 65,0
500	8,3 a 9,6	2500	51,0 a 70,0
600	9,9 a 11,3	2600	54,0 a 74,0
700	11,5 a 13,0	2700	57,0 a 78,0
800	12,5 a 14,5	2800	60,0 a 89,0
900	15,0 a 17,0	2900	64,0 a 88,0
1000	16,0 a 19,0	3000	67,0 a 93,0
1100	18,0 a 22,1	3250	73,0 a 105,0
1200	20,0 a 24,5	3350	76,0 a 110,0
1300	22,0 a 27,5	3500	87,0 a 123,0

1400	24,0 a 30,0	3750	99,0 a 140,0
1450	25,0 a 32,0	4000	110,0 a 158,0
1500	26,0 a 33,0	4250	123,0 a 177,0
1600	28,0 a 36,0	4500	140,0 a 200,0
1700	31,0 a 39,0	4750	155,0 a 228,0
1800	33,0 a 42,0	5000	170,0 a 250,0
1900	35,0 a 45,0	5500	206,0 a 315,0
2000	38,0 a 49,0	6000	250,0 a 390,0
2100	40,0 a 53,0	6500	295,0 a 480,0
		7000	350,0 a 590,0
		7500	405,0 a 735,0
		8000	470,0 a 900,0

IDENTIFICAÇÃO

Determinação do peso molecular médio.

Solução de anidrido ftálico: adicionar 49 g de anidrido ftálico num erlenmeyer âmbar e dissolver em 300 mL de piridina recentemente destilada, em presença de anidrido ftálico. Agitar o erlenmeyer vigorosamente até completa dissolução. Adicionar 7 g de imidazol e misturar, cuidadosamente, para dissolver inteiramente. Deixar a solução em repouso por 16 horas antes do uso.

Preparo da amostra para macrogóis líquidos: introduzir, cuidadosamente, 25 mL da *Solução de anidrido ftálico* num erlenmeyer seco, resistente a pressão e calor. Adicionar, ao erlenmeyer, quantidade de amostra, pesada com exatidão, equivalente ao seu peso nominal dividido por 160. Tampar o frasco e envolvê-lo com uma capa ou rede de segurança.

Preparo da amostra para macrogóis sólidos: introduzir, cuidadosamente, 25 mL da *Solução de anidrido ftálico* num erlenmeyer seco, resistente a pressão e calor. Adicionar, ao frasco, quantidade de amostra, pesada com exatidão, equivalente ao seu peso nominal divido por 160 (devido ao limite de solubilidade, não usar mais do que 25 g). Adicionar 25 mL de piridina recentemente destilada em presença de anidrido ftálico. Agitar até efetiva solução. Tampar o erlenmeyer e envolvê-lo com uma capa de segurança.

Procedimento: transferir o erlenmeyer para banho-maria com temperatura entre 96 °C e 100 °C, de modo que a altura da água do banho corresponda à altura do líquido dentro do erlenmeyer. Remover o erlenmeyer do banho após cinco minutos, sem retirar a capa de segurança, agitar por 30 segundos para assegurar a homogeneidade. Aquecer por mais 30 minutos (60 minutos para macrogol de peso molecular acima de 3000). Remover o erlenmeyer do banho e deixar esfriar até temperatura ambiente. Destampar o frasco cuidadosamente para eliminar qualquer pressão. Remover a capa de segurança. Adicionar 10 mL de água e agitar. Aguardar dois minutos, adicionar 0,5 mL de mistura de fenolftaleína SI e piridina (1:99). Titular com hidróxido de sódio 0,5 *M* SV até que a coloração rosa persista por 15 segundos. Realizar ensaio em branco utilizando mistura de 25 mL de *Solução de anidrido ftálico* e quantidade de piridina equivalente àquela adicionada à amostra.

Calcular o peso molecular médio segundo a expressão:

$$P = \frac{[2000 \times m]}{[B - S] \times (M)}$$

em que

P = peso molecular médio em g/mol;
m = massa da amostra em gramas;
B = volume de hidróxido de sódio 0,5 M SV consumido pelo branco;
S = volume de hidróxido de sódio 0,5 M SV consumido pela amostra;
M = molaridade da solução de hidróxido de sódio.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)** para as amostras líquidas e não mais que levemente turva para as amostras sólidas.

pH (5.2.19). 4,5 a 7,5. Determinar em solução preparada pela dissolução de 5 g da amostra em 100 mL de água isenta de dióxido de carbono e adição de 0,3 mL de solução saturada de cloreto de potássio.

Arsênio (5.3.2.5). Proceder conforme descrito em *Método espectrofotométrico*, *Método II*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Misturar 4 g da amostra com 5 mL de ácido clorídrico 0,1 M e diluir com água para 25 mL. Prosseguir conforme descrito em *Método I*. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 25 g da amostra, em cadinho de platina. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados. Alguns plásticos sofrem amolecimento pelo macrogol.

ROTULAGEM

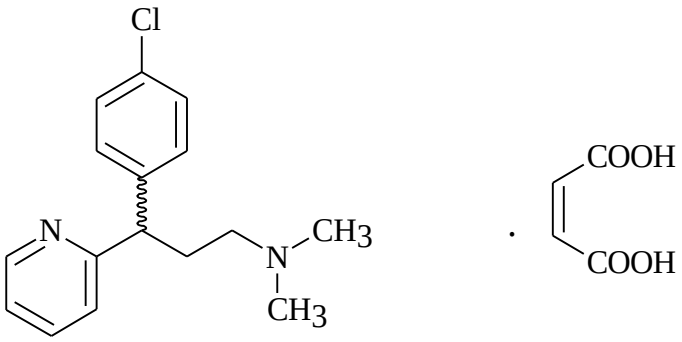
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico.

MALEATO DE CLORFENIRAMINA

Chlorphenamini maleas



$C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$; 390,86
maleato de clorfeniramina; 02442
(2*Z*)-2-Butenodioato de *γ*-(4-clorofenil)-*N*,*N*-dimetil-2-piridinapropamina (1:1)
[*113-92-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 130 ºC a 135 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de maleato de clorfeniramina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução amostra a 0,003% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo em 265 nm.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 2% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel HF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila, álcool metílico e ácido acético *M* (50:30:20), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 μL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 5% (p/v) em clorofórmio.

Solução (2): solução da amostra a 0,01% (p/v) em clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, com exceção das duas principais, correspondentes à clorfeniramina e ao ácido maleico, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,4 g da amostra, previamente dessecada, em 20 mL de ácido acético glacial. Adicionar duas gotas de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, até mudança de cor para azul-esverdeada. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Alternativamente, determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* equivale a 19,543 mg de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

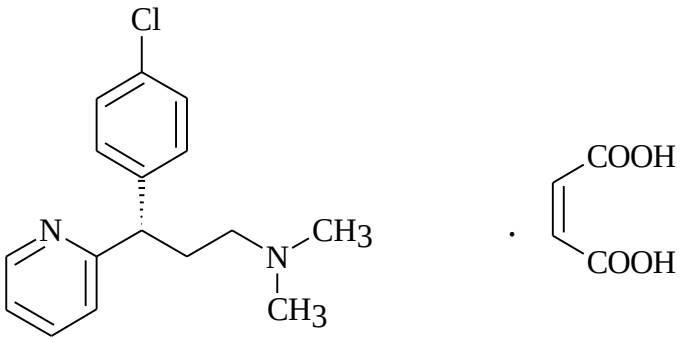
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico.

MALEATO DE DEXCLORFENIRAMINA

Dexchlorpheniramini maleas



$C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$; 390,86
maleato de dexclorfeniramina; 02839
(2*Z*)-2-Butenodioato de (*γS*)-*γ*-(4-clorofenil)-*N*,*N*-dimetil-2-piridinapropamina (1:1)
[*2438-32-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 110 °C a 115 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +39,5 a +43,0, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 5% (p/v) em dimetilformamida.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de maleato de dexclorfeniramina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,002% (p/v) em água, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de solução similar de maleato de dexclorfeniramina SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 65 °C, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5).** Pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da amostra, previamente dessecada, e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente ou utilizando 0,1 mL de cloreto de metilrosanilíneo SI até mudança de cor de azul para verde. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 19,543 mg de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antialérgico.

MALEATO DE DEXCLORFENIRAMINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pulverizar, a pó fino, quantidade de comprimidos equivalente a 150 mg de maleato de dexclorfeniramina. Adicionar 100 mL de ácido acético *M* e agitar mecanicamente por 10 minutos. Filtrar em funil sinterizado de vidro. Ajustar o pH do filtrado em 11,0 com hidróxido de sódio a 0,1% (p/v). Transferir para funil de separação e extrair com seis porções de 100 mL de hexano. Filtrar cada extrato obtido utilizando meio adequado, para permitir a eficiente separação entre a fase orgânica e a fase aquosa. Reunir os extratos e concentrar em banho aquecido até volume reduzido. Transferir para recipiente menor e evaporar até o ponto em que os vapores de hexano não sejam mais perceptíveis. Transferir o resíduo oleoso com o auxílio de quatro porções de 3 mL de dimetilformamida para proveta de 15 mL com tampa, completar o volume com o mesmo solvente e agitar. Centrifugar se necessário. A rotação óptica **(5.2.8)** está compreendida entre +0,24° e +0,35°.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). No máximo, 1,0%.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Até 15 minutos em água a 37 °C.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Triturar cada comprimido a pó fino, transferir quantitativamente para balão volumétrico de 10 mL e adicionar 9 mL de mistura de água e ácido trifluoracético (100:0,8). Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*, a partir de "Agitar mecanicamente...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 500 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de maleato de dexclorfeniramina SQR em água e diluir adequadamente de modo a obter solução a 4 μg/mL.

Injetar replicatas de 40 μL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 40 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 262 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm) capeado, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Eluente A: mistura de água e ácido trifluoracético (100:0,05).

Eluente B: mistura de acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,05).

Gradiente da Fase móvel: adotar sistema de gradiente linear, conforme descrito na tabela a seguir.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***
0	100	0
10	50	50
11	0	100
16	0	100

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 10 mg de maleato de dexclorfeniramina para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 40 mL de mistura de água e ácido trifluoracético (100:0,8). Agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir com água de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de maleato de dexclorfeniramina SQR em água e diluir adequadamente de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MALEATO DE DEXCLORFENIRAMINA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de maleato de dexclorfeniramina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Diluir o equivalente a 20 mg de maleato de dexclorfeniramina para 50 mL com ácido clorídrico (1:120). Diluir 10 mL para 100 mL com o mesmo solvente. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra, obtida no método **A.** de *Doseamento* há máximos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, correspondente àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Transferir quantitativamente volume da solução oral equivalente a 8 mg de maleato de dexclorfeniramina para funil de separação de 250 mL e ajustar o pH da solução para 11,0 com hidróxido de sódio *M*. Extrair com duas porções de 75 mL de hexano e combinar os extratos num segundo funil de separação. Repetir a extração com três porções de 50 mL de ácido clorídrico (1:120), completando o volume para 200 mL com o mesmo solvente. Em outro recipiente, pesar, com exatidão, cerca de 40 mg de maleato de dexclorfeniramina SQR, dissolver em água e completar para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 10 mL desta solução para funil de separação e ajustar o pH para 11,0 com hidróxido de sódio *M*. Extrair com duas porções de 50 mL de hexano, agitando dois minutos cada porção, antes da separação das fases. Combinar os extratos num segundo funil de separação, extrair com duas porções de 40 mL de ácido clorídrico (1:120). Combinar os extratos em balão volumétrico e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Filtrar a solução, desprezando as primeiras porções do filtrado. Medir as absorvâncias **(5.2.14)** das soluções resultantes em 264 nm, utilizando ácido clorídrico (1:120) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ na solução oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 262 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido trifluoracético (70:30:0,5).

Solução amostra: transferir volume conhecido da amostra para balão volumétrico. Adicionar água e homogeneizar, de modo a obter solução a 40 µg/mL. Filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de maleato de dexclorfeniramina SQR em água, de modo a obter solução a 40 µg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

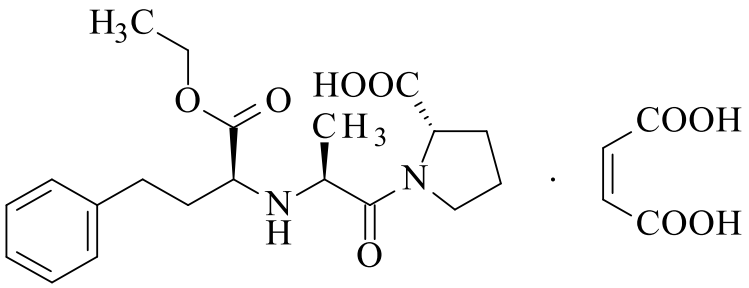
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MALEATO DE ENALAPRIL

Enalaprili maleas



$C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$; 492,53
maleato de enalapril; 03370
(2*Z*)-2-Butenodioato de *N*-[(1*S*)-1-(etoxicarbonil)-3-fenilpropil]-L-alanil-L-prolina (1:1)
[*76095-16-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 143 ºC a 145 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -48 a -51, a 20 °C, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de maleato de enalapril SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 2,4 a 2,9. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar 50 µL da *Solução amostra*. Calcular a percentagem de cada pico obtido no cromatograma da *Solução amostra*, excluindo os picos relativos ao ácido maleico e ao enalapril Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente. No máximo, 2,0% de impurezas totais.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. Determinar em 2 g de amostra. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, não superior a 5 mmHg, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e dissolver em 30 mL de água isenta de dióxido de carbono. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente, até o segundo ponto de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 16,417 mg de $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a liquido de alta eficiência* **(5.2.17.4.)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 215 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 50 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato pH 2,2 e acetonitrila (75:25).

Solução de enalaprilato: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de enalaprilato SQR em água para obter solução a 0,4 mg/mL.

Solução de dicetopiperazina de enalapril: fundir cerca de 20 mg de maleato de enalapril SQR no centro de um béquer de 100 mL sobre chapa de aquecimento (cerca de 5 a 10 minutos de aquecimento). Imediatamente após, retirar o béquer da chapa e deixar esfriar. Adicionar 50 mL de acetonitrila ao resíduo e deixar em banho de ultrassom por poucos minutos para dissolver. A solução contém, em geral, entre 0,2 e 0,4 mg/mL de dicetopiperazina de enalapril.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em tampão fosfato pH 2,2 para obter solução a 0,3 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de maleato de enalapril SQR em tampão fosfato pH 2,2 para obter solução a 0,3 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução de resolução: preparar solução de maleato de enalapril SQR a 0,3 mg/mL em tampão fosfato pH 2,2 e adicionar volume adequado da *Solução de enalaprilato* para obter solução de enalaprilato

SQR a 0,003 mg/mL. Transferir 0,75 mL da *Solução de dicetopiperazina de enalapril* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com a solução preparada anteriormente.

Injetar replicatas de 50 µL da *Solução de resolução*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 1000 pratos teóricos/metro para o enalaprilato; no mínimo, 300 pratos teóricos/metro para o enalapril e, no mínimo, 2500 pratos teóricos/metro para a dicetopiperazina de enalapril. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,3 para o ácido maleico, 0,5 para o enalaprilato, 1,0 para o enalapril e maior que 1,5 para a dicetopiperazina de enalapril. O fator de cauda do enalapril é, no máximo, 2,0. A resolução é, no mínimo, 2,0 entre enalaprilato e ácido maleico , entre enalapril e enalaprilato e entre dicetopiperazina de enalapril e enalapril . O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0% para o enalapril e 5,0% para o enalaprilato.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo.

MALEATO DE ENALAPRIL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo: transferir cada comprimido para balão volumétrico correspondente para obter solução a 0,1 mg/mL. Adicionar tampão fosfato pH 2,2 e deixar em banho de ultrassom até desintegração total do comprimido. Prosseguir conforme descrito em Doseamento a partir de "Agitar mecanicamente por 30 minutos...". Preparar *Solução padrão* em tampão fosfato pH 2,2 para obter solução de maleato de enalapril SQR a 0,1 mg/mL.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,8, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com tampão fosfato pH 6,8, até concentração adequada. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ dissolvida no meio, procedendo conforme descrito em *Uniformidade de doses unitárias*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Injetar 50 µL da *Solução amostra*. Calcular a porcentagem de cada pico obtido no cromatograma da *Solução amostra*, excluindo o pico relativo ao ácido maleico e ao enalapril. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente. No máximo, 5,0% de impurezas totais.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Maleato de enalapril*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de maleato de enalapril para balão volumétrico de 100 mL, adicionar tampão fosfato pH 2,2 e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Agitar mecanicamente por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente obtendo solução a 0,2 mg/mL. Homogeneizar e filtrar, desprezando os primeiros 5 mL do filtrado.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de maleato de enalapril SQR em tampão fosfato pH 2,2 para obter solução a 0,2 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução de resolução: preparar solução de maleato de enalapril SQR a 0,2 mg/mL em tampão fosfato pH 2,2 e adicionar volume adequado da *Solução de enalaprilato* para obter solução de enalaprilato SQR a 0,002 mg/mL. Transferir 0,5 mL da *Solução de dicetopiperazina de enalapril* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com a solução preparada anteriormente.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

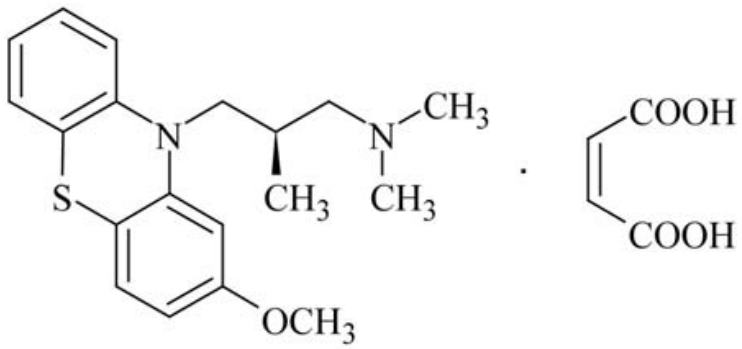
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MALEATO DE LEVOMEPROMAZINA

Levomepromazini maleas



$C_{19}H_{24}N_2OS \cdot C_4H_4O_4$; 444,55
maleato de levomepromazina; 05265
(2Z)-2-Butenodioato de (βR)-2-metoxi-N,N,β-trimetil-10H-fenotiazina-10-propanamina (1:1) [*7104-38-3*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{19}H_{24}N_2OS \cdot C_4H_4O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou ligeiramente amarelado. Deteriora-se quando exposto ao ar e à luz.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -7,0 a -8,5, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 5% (p/v) em dimetilformamida.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro do maleato de levomepromazina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool metílico, há máximos em 254 nm e 308 nm. Os valores de absorvância são de, aproximadamente, 0,6 e 0,1, respectivamente.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de água, ácido fórmico anidro e éter isopropílico (3:7:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, em banda de 10 mm por 2 mm, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 20 mg/mL da amostra em mistura de água e acetona (1:9).

Solução (2): solução a 5 mg/mL de ácido maleico SQR em mistura de água e acetona (1:9).

Desenvolver o cromatograma (12 cm). Remover a placa, secar a 120 °C durante 10 minutos. Examinar à luz ultravioleta (254 nm). A *Solução (1)* apresenta uma mancha sobre o ponto de aplicação e outra mancha principal, que corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,5 a 5,5. Proceder ao abrigo da luz intensa. Pesar 0,5 g da amostra e adicionar 25 mL de água isenta de dióxido de carbono. Agitar e deixar sedimentar. Verificar o pH do sobrenadante.

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz intensa. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetona, dietilamina e cicloexano (10:10:80), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 20 mg/mL da amostra em mistura de água e acetona (1:9).

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução* (1) para 100 mL com mistura de água e acetona (1:9).

Desenvolver o cromatograma (15 cm). Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar à luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa de 100 °C a 105 °C, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,35 g da amostra e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 44,455 mg de $C_{19}H_{24}N_2OS{\cdot}C_4H_4O_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

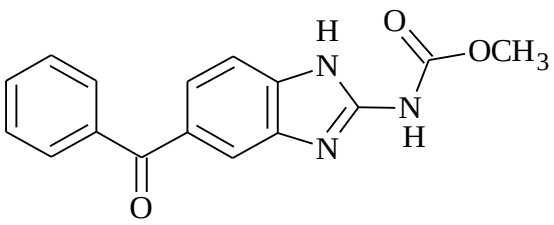
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antipsicótico; neuroléptico.

MEBENDAZOL

Mebendazolum



$C_{16}H_{13}N_3O_3$; 295,30
mebendazol; 05515
Éster metílico do ácido N-(6-benzoil-1H-benzimidazol-2-il)carbâmico
[*31431-39-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{16}H_{13}N_3O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino branco a ligeiramente amarelo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Solúvel em ácido fórmico e praticamente insolúvel em ácidos minerais.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de mebendazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 30 mg da amostra em 2 mL de ácido fórmico anidro e diluir, sucessivamente, em álcool isopropílico, até concentração de 0,00075% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 320 nm, há máximos em 247 nm e 312 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de mebendazol SQR.

C. Dissolver 40 mg da amostra em 2 mL de ácido fórmico anidro e adicionar 5 mL de álcool etílico acidificado com algumas gotas de ácido clorídrico. Agitar vigorosamente e filtrar. Adicionar ao filtrado cerca de 3 mg de cloridrato de p-fenilenodiamina e agitar. Adicionar cerca de 0,1 g de zinco em pó e deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 5 mL de sulfato férrico amoniacal ácido SR. Desenvolve-se coloração violeta.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e ácido fórmico anidro (90:5:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 50 mg da amostra em 1 mL de ácido fórmico anidro e completar o volume para 10 mL com clorofórmio.

Solução (2): dissolver 50 mg de mebendazol SQR em 1 mL de ácido fórmico anidro e completar o volume para 10 mL com clorofórmio.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com mistura de clorofórmio e ácido fórmico anidro (9:1). Homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,225 g da amostra e dissolver em 30 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 29,530 mg de $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico.

MEBENDAZOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G como suporte e mistura de clorofórmio, álcool metílico e ácido fórmico a 96% (p/p) (90:5:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): triturar, no mínimo, 10 comprimidos até pó fino, pesar o equivalente a 0,2 g de mebendazol, adicionar 20 mL de mistura de clorofórmio e ácido fórmico a 96% (p/p) (19:1), deixar em banho-maria durante um a dois minutos, esfriar e filtrar.

Solução (2): preparar solução de mebendazol SQR a 10 mg/mL em mistura de clorofórmio e ácido fórmico a 96% (p/p) (19:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo: transferir cada comprimido para um balão volumétrico de 100 mL, adicionar 20 mL de ácido fórmico e aguardar a total desintegração do comprimido. Aquecer em banho-maria por 15 minutos. Esfriar, completar o volume com álcool isopropílico. Homogeneizar e filtrar. Diluir em álcool isopropílico até a concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 310 nm **(5.2.14)** utilizando mistura de ácido fórmico a 96% (p/p) e álcool isopropílico (1:500) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 1,0% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 M, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 120 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com *Meio de dissolução* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 248 nm **(5.2.14)**, utilizando o *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ dissolvida

no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de mebendazol SQR na concentração de 0,0005% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ se dissolvem em 120 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de mebendazol para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de ácido fórmico e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com álcool isopropílico. Homogeneizar e filtrar. Transferir 1 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, completar o volume com álcool isopropílico e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando mistura de ácido clorídrico 0,1 *M* e álcool isopropílico (5:95) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de mebendazol para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de ácido fórmico e aquecer em banho-maria a 50 ºC por 15 minutos. Esfriar e completar o volume com água. Homogeneizar e filtrar em filtro de vidro de média porosidade. Transferir 10 mL do filtrado para funil de separação, adicionar 50 mL de clorofórmio e 50 mL de água. Agitar durante dois minutos, deixar separar as fases e transferir a camada clorofórmica para um segundo funil de separação. Lavar a camada aquosa com duas porções de 10 mL de clorofórmio, reunindo os extratos clorofórmicos no segundo funil de separação. Descartar a camada aquosa. Lavar os extratos clorofórmicos combinados, com mistura de ácido clorídrico 0,1 *M* e ácido fórmico a 10% (v/v) (4:50). Transferir a camada clorofórmica para balão volumétrico de 100 mL. Lavar a camada aquosa com duas porções de 10 mL de clorofórmio reunindo os extratos clorofórmicos no mesmo balão volumétrico. Completar o volume com álcool isopropílico e homogeneizar. Transferir 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool isopropílico e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 20 mg de mebendazol SQR para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 90 mL de clorofórmio, 7 mL de álcool isopropílico e 2 mL ácido fórmico a 10% (v/v). Agitar até completa dissolução e completar o volume com álcool isopropílico. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 200 mL. Completar o volume com álcool isopropílico e homogeneizar.

Solução branco: transferir 45 mL de clorofórmio para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1 mL de ácido fórmico a 10% (v/v), completar com álcool isopropílico e homogeneizar. Transferir 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar com álcool isopropílico e homogeneizar.

Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 274 nm, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

C. Por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 247 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μm a 10 μm), mantida à temperatura de 30 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e fosfato de potássio monobásico 0,05 *M* (60:40). Ajustar o pH para 5,5 com ácido fosfórico 0,1 *M* ou hidróxido de sódio *M*.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,5 g de mebendazol, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de ácido fórmico e aquecer em banho-maria a 50 °C por 15 minutos. Agitar mecanicamente por uma hora, completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com mistura de ácido fórmico e álcool metílico (1:9) e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir 25 mg de mebendazol SQR, pesados com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 10 mL de ácido fórmico e aquecer em banho-maria à 50 °C por 15 minutos. Agitar mecanicamente por cinco minutos, acrescentar 80 mL de álcool metílico e resfriar. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar.

Injetar replicatas de 15 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2500 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 15 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatograma e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MEBENDAZOL SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0%, da quantidade declarada de $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Esvaziar completamente o conteúdo de 10 frascos, previamente agitados, em provetas correspondentes, limpas e secas, providas de tampa, e observar imediatamente sob condições adequadas de visibilidade. O conteúdo escorre com fluidez, a suspensão se apresenta homogênea, viscosa, isenta de grumos e partículas estranhas. Após 24 horas de repouso, pode apresentar ligeira sedimentação, que ressuspende após agitação.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,0 a 7,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e ácido fórmico (90:5:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 50 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): a uma alíquota equivalente a 10 mg de mebendazol, adicionar 1 mL de ácido fórmico, agitar até dissolução, completar o volume para 10 mL com clorofórmio, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): pesar 10 mg de mebendazol SQR, adicionar 1 mL de ácido fórmico, agitar até dissolução, completar o volume para 10 mL com clorofórmio e homogeneizar.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para um balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com uma mistura de clorofórmio e ácido fórmico (9:1) e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é maior nem mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 100 mg de mebendazol para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 30 mL de ácido fórmico e agitar até completa dissolução. Completar o volume com ácido fórmico e misturar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, agitar e completar o volume com álcool isopropílico. Aquecer até leve fervura e filtrar. Esfriar e diluir em álcool isopropílico até a concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 310 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* e álcool isopropílico (1:9) para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 100 mg de mebendazol para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de ácido fórmico e colocar em banho-maria a 50 °C durante 15 minutos. Esfriar, completar o volume com água, homogeneizar e filtrar através de um filtro de vidro de média porosidade. Transferir 10 mL do filtrado para um funil de separação, adicionar 50 mL de clorofórmio, 50 mL de água e agitar durante dois minutos. Deixar separar as fases e transferir a camada clorofórmica para um segundo funil de separação. Lavar a camada aquosa com duas porções de 10 mL de clorofórmio e adicionar os lavados clorofórmicos ao segundo funil de separação. Lavar os extratos clorofórmicos combinados com uma mistura de ácido clorídrico *M* e ácido fórmico a 10% (v/v) (4:50). Transferir a camada clorofórmica para um balão volumétrico de 100 mL. Lavar a camada aquosa com duas porções de 10 mL de clorofórmio, adicionar o extrato ao balão volumétrico, completar com álcool isopropílico e misturar. Diluir em álcool isopropílico até a concentração de 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Preparar o branco como descrito a seguir. Transferir 45 mL de clorofórmio para um balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1 mL de ácido fórmico a 10% (v/v), completar com álcool isopropílico, homogeneizar, transferir 5 mL desta solução para um balão volumétrico de 100 mL, completar com álcool isopropílico e homogeneizar. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 274 nm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

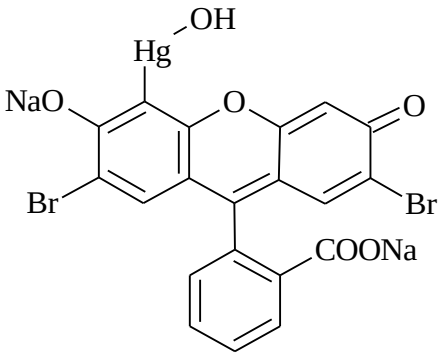
Em recipientes de vidro âmbar, bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MERBROMINA

Merbrominum



$C_{20}H_8Br_2HgNa_2O_6$; 750,66
merbromina; 05676
Sal de sódio do (2'7'-dibromo-3',6'-di-hidroxi-3-oxospiro[isobenzofuran-1(3*H*),9'-[9*H*]xanten]-4'-il) hidroximercúrio (2:1)
[*129-16-8*]

Contém, no mínimo, 22,4% e, no máximo, 26,7% de mercúrio (Hg = 200,59) e, no mínimo, 18,0% e, no máximo, 22,4% de bromo (Br = 79,90), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Escama ou grânulo verde-metálico a castanho-avermelhado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, porém, algumas vezes deixa pequena quantidade de material insolúvel, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 0,05% (p/v) apresenta cor vermelha e fluorescência verde amarelada.

B. A 5 mL de solução a 0,4% (p/v) adicionar três gotas de ácido sulfúrico SR. Produz-se precipitado laranja-avermelhado.

C. Aquecer 0,1 g da amostra com pequenos cristais de iodo em tubo de ensaio. Cristais vermelhos são sublimados na parte superior do tubo. Se forem produzidos cristais amarelos, atritar com bastão de vidro. A cor dos cristais passa para vermelha.

D. Pesar 0,1 g da amostra e adicionar 12 mL de solução de hidróxido de sódio a 16,67% (p/v). Evaporar até secura com agitação e incinerar a 600 °C por uma hora. Dissolver o resíduo em 5 mL de água e acidificar com ácido clorídrico. Adicionar três gotas de cloro SR, 2 mL de clorofórmio e agitar; na camada clorofórmica, produz-se cor castanho-amarelada.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da solução. Dissolver 0,4 g da amostra em 20 mL de água, adicionar 3 mL de ácido sulfúrico SR e filtrar. A coloração do filtrado não é mais intensa que a da *Solução padrão de cor SC C* **(5.2.12)**.

Compostos insolúveis de mercúrio. Dissolver 2,5 g da amostra em 50 mL de água e deixar em repouso por 24 horas, ao abrigo da luz. Centrifugar e lavar o precipitado com pequenas porções de água até que a última lavagem seja incolor. Transferir o precipitado para frasco com rolha esmerilhada, adicionar, com exatidão, 5 mL de iodo 0,05 *M* SV e deixar em repouso por uma hora, agitando frequentemente. Adicionar, gota a gota, 4,3 mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, com agitação. Adicionar 1 mL de amido SI. Desenvolve-se coloração azul.

Halogênios solúveis.

Preparação amostra: dissolver 5 g da amostra em 80 mL de água, adicionar 10 mL de ácido nítrico a 10% (p/v) e diluir para 100 mL com água. Homogeneizar e filtrar. Transferir 40 mL do filtrado para tubo de Nessler, adicionar 6 mL de ácido nítrico 10% (p/v) e diluir para 50 mL com água.

Preparação padrão: em tubo de Nessler adicionar 0,25 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*, 6 mL de ácido nítrico 10% (p/v) e diluir para 50 mL com água.

Procedimento: adicionar aos tubos 1 mL de nitrato de prata 0,1 *M*, misturar bem e deixar em repouso por cinco minutos ao abrigo da luz. Qualquer turvação produzida na *Preparação amostra* não é mais intensa que aquela obtida na *Preparação padrão*.

Sais solúveis de mercúrio.

Preparação amostra: transferir para tubo de ensaio 5 mL do filtrado obtido em *Aspecto da solução* e adicionar 5 mL de água.

Preparação padrão: dissolver 40 mg de cloreto de mercúrio (II), pesados com exatidão, em água e diluir para 1000 mL com o mesmo solvente. A 20 mL dessa solução, adicionar 3 mL de ácido sulfúrico SR. Transferir para tubo de ensaio 5 mL da solução precedente e adicionar 5 mL de água.

Procedimento: adicionar aos tubos uma gota de sulfeto de sódio SR. Qualquer coloração desenvolvida na *Preparação amostra* não é mais intensa que aquela obtida com a *Preparação padrão*.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por cinco horas. No máximo, 5,0%.

DOSEAMENTO

Mercúrio.

Pesar, com exatidão, cerca de 0,6 g da amostra previamente pulverizada e dessecada, transferir para frasco com rolha e dissolver com 50 mL de água. Acrescentar 8 mL de ácido acético glacial, 20 mL de clorofórmio e, exatamente, 30 mL de iodo 0,05 *M* SV. Tampar hermeticamente e deixar em repouso por uma hora agitando, frequentemente, com vigor. Titular o excesso de iodo com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, com agitação vigorosa, utilizando 1 mL de amido SI. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 10,030 mg de Hg.

Bromo.

Pesar, com exatidão, em cadinho de porcelana, cerca de 0,5 g de amostra previamente pulverizada e dessecada, acrescentar 2 g de nitrato de potássio, 3 g de carbonato de potássio anidro, 3 g de carbonato de sódio anidro e homogeneizar. Cobrir a superfície da mistura com 3 g de partes iguais de carbonato de potássio anidro e carbonato de sódio anidro e calcinar, entre 400 ºC e 500 ºC, por uma hora.

Resfriar, dissolver e transferir quantitativamente a mistura calcinada para erlenmeyer, com o auxílio de 80 mL de água quente, e acidificar com ácido nítrico. Adicionar 25 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV e agitar. Titular o excesso de nitrato de prata com tiocianato de amônio 0,1 *M* SV utilizando 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 7,990 mg de Br.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e opacos.

ROTULAGEM

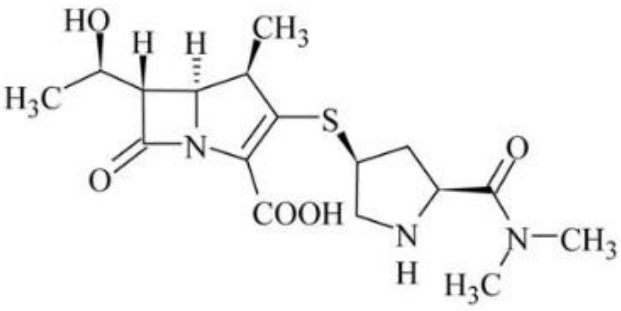
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Conservante.

MEROPENÉM

Meropenemum



$C_{17}H_{25}N_3O_5S$; 383,46
meropeném; 05688
Ácido (4*R*,5*S*,6*S*)-3-[[(3*S*,5*S*)-5-[(dimetilamino)carbonil]-3-pirrolidinil]tio]-6-[(1*R*)-1-hidroxietil]-4-metil-7-oxo-1-azabiciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico
[*96036-03-2*]

$C_{17}H_{25}N_3O_5S.3H_2O$; 437,51
meropeném tri-hidratado; 09494
Ácido (4*R*,5*S*,6*S*)-3-[[(3*S*,5*S*)-5-[(dimetilamino)carbonil]-3-pirrolidinil]tio]-6-[(1*R*)-1-hidroxietil]-4-metil-7-oxo-1-azabiciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico hidratado (1:3)
[*119478-56-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{17}H_{25}N_3O_5S$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou amarelo-pálido.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em fosfato de potássio monobásico a 5% (p/v).

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 230 °C a 240 °C, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -17 a -21. Determinar em solução aquosa a 0,5% (p/v), a 20 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de meropeném SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,003% (p/v) em água, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de meropeném SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 1,6 mL/minuto. Se necessário, ajustar o fluxo da *Fase móvel* para que o tempo de retenção do meropeném esteja entre cinco a sete minutos.

Fase móvel: mistura de *Diluente* e acetonitrila (1000:70).

Diluente: adicionar 1 mL de trietilamina a 900 mL de água, ajustar o pH em 5,0 ± 0,1 com ácido fosfórico a 10% (v/v) e diluir para 1000 mL com água.

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra no *Diluente* e diluir quantitativamente, de modo a obter solução a 5 mg/mL. Injetar imediatamente após o preparo.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de meropeném SQR no *Diluente* e diluir quantitativamente, de modo a obter solução a 25 µg/mL. Injetar imediatamente após o preparo ou conservar sob refrigeração por não mais que 24 horas.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (2)*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2500 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico referente ao meropeném. As principais impurezas são observadas nos tempos de retenção de 0,45 e 1,9 relativos ao pico do meropeném. Calcular a porcentagem de cada impureza presente na amostra a partir da seguinte equação:

$$\left(\frac{Cp}{Ca}\right) \times P \times \left(\frac{Ai}{Ap}\right)$$

em que

C_p = concentração, em mg/mL, de meropeném SQR na solução padrão;
C_a = concentração, em mg/mL, de meropeném na solução amostra;
P = potência declarada, em relação à substância anidra, de meropeném na substância química de referência;
A_i = área sob o pico correspondente a qualquer impureza individual obtida na solução amostra;
A_p = área sob o pico correspondente ao meropeném obtido na solução padrão.

No máximo, 0,3% de qualquer uma das duas principais impurezas, em relação à substância anidra. No máximo, 0,1% de qualquer outra impureza individual, em relação à substância anidra. Calculado em relação à substância anidra, a soma de todas as outras impurezas, com exceção das impurezas principais, deve ser, no máximo, 0,3%.

Água (5.2.20.1). 11,4% a 13,4%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar a (500 ± 50) °C. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar o *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,125 UE/mg de meropeném.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 298 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 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 1,0 mL/minuto.

Tampão pH 3,0: preparar solução de fosfato de potássio monobásico 0,03 *M*. Ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 3,0* e acetonitrila (90:10).

Nota: *injetar as soluções, descritas a seguir, imediatamente após o preparo ou manter sob refrigeração por, no máximo, 24 horas.*

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em água e diluir de modo a obter solução de meropeném ($C_{17}H_{25}N_3O_5S$) a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de meropeném SQR em água e diluir, de modo a obter solução de meropeném ($C_{17}H_{25}N_3O_5S$) a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 4000 pratos teóricos para o pico de meropeném. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{17}H_{25}N_3O_5S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para a padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar quantidade da amostra equivalente a 30 mg de meropeném, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar com água estéril. Diluir para obter as concentrações de 1,5 µg/mL, 3,0 µg/mL e 6,0 µg/mL, utilizando água estéril como diluente.

Solução padrão: pesar quantidade de meropeném SQR equivalente a 30 mg de meropeném, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar com água estéril. Diluir para obter as concentrações de 1,5 µg/mL, 3,0 µg/mL e 6,0 µg/mL, utilizando água estéril como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de meropeném por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

MEROPENÉM TRI-HIDRATADO PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de meropeném ($C_{17}H_{25}N_3O_5S$). Meropeném pó para solução injetável é uma mistura seca estéril de meropeném tri-hidratado e carbonato de sódio.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar, individualmente, três unidades, remover o conteúdo, lavar os respectivos frascos, secá-los e pesá-los novamente. Homogeneizar o conteúdo dos frascos. Agitar quantidade de pó com água e diluir, quantitativamente, com o mesmo solvente até concentração de 0,002% (p/v). Filtrar, se necessário. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução amostra, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximo em 298 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de meropeném SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 7,3 a 8,3. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**.Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,6 mL/minuto. Se necessário, ajustar o fluxo da *Fase móvel* para que o tempo de retenção de meropeném esteja entre cinco a sete minutos.

Fase móvel: mistura de *Diluente* e acetonitrila (1000:70).

Diluente: adicionar 1 mL de trietilamina a 900 mL de água, ajustar o pH em 5,0 ± 0,1 com ácido fosfórico a 10% (v/v) e diluir para 1000 mL com água.

Solução (1): pesar, individualmente, três unidades, remover o conteúdo, lavar os respectivos frascos, secá-los e pesá-los novamente. Homogeneizar o conteúdo dos frascos. Agitar quantidade, pesada com exatidão, de pó com *Diluente* e diluir quantitativamente com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 5 mg/mL. Injetar imediatamente após o preparo.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de meropeném SQR em *Diluente* e diluir quantitativamente com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 25 µg/mL. Injetar imediatamente após o preparo ou conservar sob refrigeração por não mais que 24 horas.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (2)*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2500 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* e registrar os cromatograma por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico referente ao meropeném. As principais impurezas são observadas nos tempos de retenção de 0,45 e 1,9, relativos ao pico do meropeném. Calcular a porcentagem de cada impureza presente na amostra segundo a expressão:

$$10 \times \left(\frac{C \times P}{m}\right) \times \left(\frac{A_i}{A_p}\right)$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de meropeném SQR na *Solução (2)*;
P = potência declarada, em relação à substância anidra, de meropeném SQR;
m = quantidade de meropeném, em mg, na massa de pó pesada para o preparo da *Solução (1)*;
A_i = área sob o pico correspondente a qualquer impureza individual obtida na *Solução (1)*;
A_p = área sob o pico correspondente ao meropeném obtido na *Solução (2)*.

No máximo, 0,8% de impureza com tempo de retenção relativo de 0,45, em relação ao pico de meropeném. No máximo, 0,6% de impureza com tempo de retenção relativo de 1,9, em relação ao pico de meropeném.

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica com chama* **(5.2.13.1.1)**. Utilizar espectrômetro provido de chama de ar e acetileno e lâmpada de catodo oco de sódio com emissão de luz a 589,6 nm.

Solução de cloreto de potássio: dissolver 38,1 g de cloreto de potássio em água e diluir para 1000 mL com o mesmo solvente.

Solução amostra: pesar, individualmente, três unidades, remover o conteúdo, lavar os respectivos frascos, secá-los e pesá-los novamente. Homogeneizar o conteúdo dos frascos. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de meropeném para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com água. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de *Solução de cloreto de potássio* e completar o volume com água.

Solução padrão: dissolver em água 28,67 mg de cloreto de sódio, previamente dessecado a 105 °C por duas horas, de modo a obter solução de cloreto de sódio a 28,67 µg/mL. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de *Solução de cloreto de potássio* e completar o volume com água.

Branco: transferir 5 mL de *Solução de cloreto de potássio* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água.

Procedimento: medir as absorvâncias da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, utilizando *Branco* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de sódio, em mg, no pó para solução injetável de meropeném, a partir das leituras obtidas. Contém entre 80% e 120% da quantidade declarada de sódio.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 65 °C, sob pressão reduzida, por seis horas. Entre 9,0% e 12,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar o *Método de filtração em membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,125 UE/mg de meropeném.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 298 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 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 1 mL/minuto.

Tampão pH 3,0: preparar solução de fosfato de potássio monobásico 0,03 *M*. Ajustar o pH em 3,0 ± 0,1 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 3,0* e acetonitrila (90:10).

Nota: *injetar as soluções, descritas a seguir, imediatamente após o preparo ou manter sob refrigeração por, no máximo, 24 horas.*

Solução amostra: pesar, individualmente, 20 unidades, remover o conteúdo, lavar os respectivos frascos, secá-los e pesá-los novamente. Homogeneizar o conteúdo dos frascos. Dissolver quantidade, pesada com exatidão, do pó em água, de modo a obter solução de meropeném ($C_{17}H_{25}N_3O_5S$) a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de meropeném SQR em água, de modo a obter solução de meropeném ($C_{17}H_{25}N_3O_5S$) a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 4000 pratos teóricos para o pico de meropeném. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e mediar as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{25}N_3O_5S$ no pó para solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MESILATO DE GEMIFLOXACINO COMPRIMIDOS

Contém mesilato de gemifloxacino equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de gemifloxacino ($C_{18}H_{20}FN_5O_4$).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se for realizado o teste* ***B.*** *O teste de identificação* ***B.*** *pode ser omitido se for realizado o teste* ***A.***

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte, e mistura de álcool butílico, água, hidróxido de amônio e acetona (10:15:15:60), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir. Proceder ao abrigo da luz direta.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Levar a banho de ultrassom, durante 15 minutos, quantidade do pó equivalente a 10 mg de gemifloxacino com 100 mL de álcool metílico. Filtrar a solução.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de mesilato de gemifloxacino SQR em álcool metílico de modo a obter solução de gemifloxacino a 0,1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,0, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: proceder ao abrigo da luz direta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* e a *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 5 mL da amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de mesilato de gemifloxacino SQR em tampão fosfato pH 6,0 de modo a obter solução de gemifloxacino a 350 µg/mL. Diluir sucessivamente com *Fase móvel* de modo a obter concentração de 70 µg/mL de gemifloxacino

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{20}FN_5O_4$ se dissolvem em 60 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 60 mg de gemifloxacino para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 30 minutos, completar o volume com álcool metílico e filtrar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,0006% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 272 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{20}FN_5O_4$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder ao abrigo da luz direta, 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 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de solução aquosa de trietilamina 0,3% (v/v) pH 3,0, previamente ajustada com ácido fosfórico 10% (v/v) e acetonitrila (80:20).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de gemifloxacino para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 30 minutos, completar o volume com álcool metílico. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico de modo a obter concentração de 20 µg/mL de gemifloxacino. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de mesilato de gemifloxacino SQR em álcool metílico e diluir adequadamente de modo a obter solução de gemifloxacino a 20 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna para o pico de gemifloxacino é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade em mg de $C_{18}H_{20}FN_5O_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

C. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, por difusão em ágar utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 1, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de gemifloxacino para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 30 minutos, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, até concentrações de 0,5 µg/mL, 1,5 µg/mL e 4,5 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* como diluente.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de mesilato de gemifloxacino SQR em álcool metílico e diluir adequadamente de modo a obter solução de gemifloxacino a 0,1 mg/mL. Diluir, sucessivamente, até concentrações de 0,5 µg/mL, 1,5 µg/mL e 4,5 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 1 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a quantidade em mg de gemifloxacino ($C_{18}H_{20}FN_5O_4$) nos comprimidos a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

METABISSULFITO DE SÓDIO

Natrii metabisulfis

$Na_2S_2O_5$; 190,11
SO_2; 64,06
metabissulfito de sódio; 05711
Sal de sódio do ácido dissulfuroso (2:1)
[*7681-57-4*]

O metabissulfito de sódio contém uma quantidade de $Na_2S_2O_5$ equivalente a, no mínimo, 65,0% e a, no máximo, a 67,4% de SO_2.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais brancos, quase brancos ou transparentes. É eflorescente.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A solução a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio e do íon sulfito **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,5 a 5,0**.** Determinar em solução a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Limite de tiossulfatos. Misturar 2,2 g da amostra com 10 mL de ácido clorídrico *M.* Aquecer levemente por cinco minutos, resfriar e transferir para um pequeno tubo de ensaio. Se houver turbidez, esta não é maior que a produzida por 0,1 mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M*, tratado nas mesmas condições (0,05%).

Arsênio (5.3.2.5). Misturar 0,6 g da amostra com 2 mL de água em um béquer. Adicionar, gota a gota, 1,5 mL de ácido nítrico. Evaporar à secura em banho-maria. Aquecer sobre a chama, até não haver mais produção de vapores. Transferir o resíduo e completar para 25 mL. Prosseguir conforme descrito em *Método I.* No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 0,5 g da amostra em 14 mL de ácido clorídrico diluído (2 em 7) e evaporar à secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 7 mL de ácido clorídrico diluído (2 em 7) e, novamente evaporar à secura. Dissolver o resíduo em uma mistura de 2 mL de ácido clorídrico e 20 mL de água, adicionar três gotas de água de bromo SR. Aquecer à ebulição para expelir o bromo. Resfriar. Diluir com água a 40 mL. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água, adicionar 5 mL de ácido clorídrico e evaporar à secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 25 mL de água. No máximo, 0,002% (20 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,2 g da amostra em 50 mL de iodo 0,05 *M* SV. Deixar em repouso ao abrigo da luz por cinco minutos. Adicionar 1 mL de ácido clorídrico e titular o iodo em excesso com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV usando, como indicador, 3 mL de solução de amido SI, que deve ser adicionado próximo ao final da titulação. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 3,203 mg de SO_2.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO.

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Antioxidante.

METAFOSFATO DE POTÁSSIO
Kalii metaphosphas

$(KPO_3)_x$
metafosfato de potássio; 05721
Sal de potássio do ácido metafosfórico (1:1)
[*7790-53-6*]

Metafosfato de potássio é um polímero de cadeia linear com alto grau de polimerização. Contém o equivalente a, no mínimo, 59,0% e, no máximo, 61,0% de P_2O_5.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco.

Solubilidade. Insolúvel em água. Solúvel em soluções aquosas diluídas de sais de metais alcalinos (exceto potássio).

Constantes físico-químicas.

Viscosidade **(5.2.7)**: misturar 0,3 g da amostra com 200 mL de pirofosfato de sódio a 0,35% (p/v), usando agitador magnético. Determinar a viscosidade da preparação límpida obtida ou da fase líquida da mistura obtida, após 30 minutos de agitação contínua. Entre 6,5 cP e 15 cP.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adicionar 1 g da amostra finamente pulverizada, lentamente e com agitação vigorosa, a 100 mL de cloreto de sódio a 2% (p/v). Forma-se massa gelatinosa.

B. Aquecer à ebulição, por 30 minutos, mistura de 0,5 g da amostra, 10 mL de ácido nítrico e 50 mL de água, e resfriar. A solução resultante satisfaz às reações do íon fosfato **(5.3.1.1)** e às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de fluoretos. Transferir 5 g da amostra, 25 mL de água, 50 mL de ácido perclórico, cinco gotas de nitrato de prata a 50% (p/v) e algumas pérolas de vidro para frasco de destilação de 250 mL, conectado a condensador contendo termômetro e tubo capilar, ambos em contato com o líquido. Conectar funil de adição pequeno, preenchido com água, ou gerador de vapor ao tubo capilar. Adaptar o frasco a sistema de destilação com 1/3 do fundo do frasco na chama. Destilar para frasco volumétrico de 250 mL até a temperatura atingir 135 ºC. Adicionar água através do funil de adição ou introduzir vapor através de um capilar para manter a temperatura entre 135 ºC e 140 ºC. Continuar a destilação até recolher de 225 mL a 240 mL, e então completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 50 mL dessa solução para tubo de Nessler e, para o tubo de Nessler padrão, transferir 50 mL de água. Adicionar a cada um dos tubos 0,1 mL de solução filtrada de alizarina SI e 1 mL de solução recentemente preparada de cloridrato de hidroxilamina a 0,025% (p/v) e homogeneizar. Adicionar, gota a gota, e sob agitação, hidróxido de sódio 0,05 *M* para o tubo contendo a amostra, até que a cor corresponda à do tubo padrão (levemente rósea). A seguir, adicionar a cada tubo 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar. Utilizando bureta com graduação de 0,05 mL, adicionar, vagarosamente, ao tubo contendo a amostra, quantidade suficiente de nitrato de tório a 0,025% (p/v), de maneira que, após a homogeneização, a cor do líquido é alterada para rosa. Registrar o volume de solução adicionada, adicionar o mesmo volume, medido com exatidão, para o tubo padrão e

homogeneizar. A seguir, com auxílio da bureta, adicionar fluoreto de sódio SR (10 μg de F/mL), para tornar similar a coloração dos dois tubos, após a diluição para um mesmo volume. Homogeneizar e permitir que as bolhas de ar escapem antes de proceder à comparação final de cor. Verificar o ponto final, adicionando uma ou duas gotas de fluoreto de sódio SR para o tubo padrão. Uma coloração distinta é observada. O volume de fluoreto de sódio requerido para a solução de referência não deverá exceder a 1 mL (0,001%).

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver 1 g da amostra em 15 mL de ácido clorídrico 3 *M* e prosseguir conforme descrito em *Método espectrofotométrico*, *Método I*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Chumbo (5.3.2.12). Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para chumbo*. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* a 1 g da amostra e aquecer até que não se dissolva mais. Adicionar 15 mL de água, homogeneizar e filtrar. No máximo, 0,002% (20 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Misturar 0,2 g da amostra com 15 mL de ácido nítrico e 30 mL de água, ferver por 30 minutos, resfriar e diluir com água a aproximadamente 100 mL. Aquecer a 60 ºC, adicionar excesso de molibdato de amônio SR1 e aquecer a 50 ºC por 30 minutos. Filtrar e lavar o precipitado, primeiro com ácido nítrico 0,5 *M* e em seguida com nitrato de potássio a 1% (p/v), até que no filtrado não seja detectado resíduo ácido (utilizar papel tornassol). Adicionar 25 mL de água ao precipitado, dissolver com 50 mL de hidróxido de sódio *M* SV, adicionar fenolftaleína SI e titular o excesso de hidróxido de sódio *M* SV com ácido sulfúrico 0,5 *M* SV. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 3,086 mg de P_2O_5.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

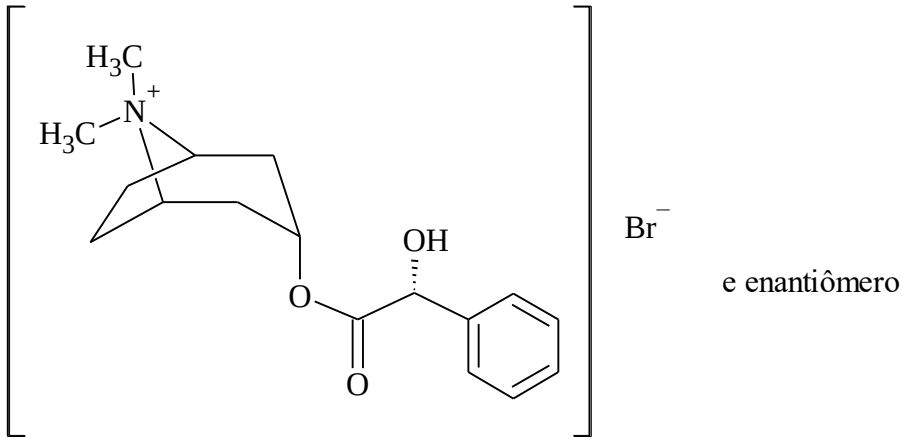
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tamponante.

METILBROMETO DE HOMATROPINA

Homatropini methylbromidum



e enantiômero

$C_{17}H_{24}BrNO_3$; 370,29
metilbrometo de homatropina; 04747
Brometo de (3-*endo*)-3-[(2-hidroxi-2-fenilacetil)oxi]-8,8-dimetil-8-azoniabiciclo[3.2.1]octano (1:1)
[*80-49-9*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 100,5% de $C_{17}H_{24}BrNO_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou cristais incolores. Ponto de fusão **(5.2.2)**: em torno de 190 ºC.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metilbrometo de homatropina SQR, preparado de maneira idêntica. Caso sejam observadas diferenças nos espectros, dissolver a amostra e o padrão, separadamente, em álcool metílico e recristalizar pela adição de dioxano a cada solução.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra a 0,1% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 258 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de metilbrometo de homatropina SQR.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de água e adicionar iodeto de potássio mercúrico SR. Produz-se precipitado branco ou levemente amarelado. Não se produz precipitado pela adição de soluções de hidróxidos alcalinos ou carbonatos, mesmo em soluções concentradas da amostra (distinção da maioria dos alcaloides).

D. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de água e adicionar reineckato de amônio SR. Produz-se precipitado vermelho.

E. A solução aquosa da amostra a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon brometo **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação da amostra a 5% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 4,5 a 6,5. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de ácido fórmico anidro, água e acetato de etila (16,5:16,5:67), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em mistura de água e álcool metílico (1:9) e diluir para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução (1)* para 100 mL com mistura de água e álcool metílico (1:9).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar em estufa entre 100 ºC e 105 ºC, até que o odor de solvente não seja perceptível. Deixar esfriar. Nebulizar com iodobismutato de potássio diluído SR e, em seguida, com peróxido de hidrogênio 3% (p/v) SR. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia gasosa* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo a gás provido de detector de ionização de chamas; coluna cromatográfica de sílica fundida (30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno), coberta com sílica quimicamente ligada a fenilmetilpolisiloxano (5:95) (5 µm); pré-coluna de 5 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno com sílica desativada com fenilmetilsiloxano. Programar a temperatura da coluna de acordo com os seguintes parâmetros: deixar a 35 ºC por cinco minutos e aumentar para 175 ºC na razão de 8 ºC por minuto; aumentar até 260 °C na razão de 35 °C por minuto e manter, por pelo menos 16 minutos. Manter as temperaturas do injetor e do detector a 70 °C e a 260 °C, respectivamente. Utilizar hélio como gás de arraste a velocidade linear de cerca de 35 cm/segundo.

Solução amostra: dissolver, em água isenta de material orgânico, quantidade da amostra, pesada com exatidão, de modo a obter solução a 20 mg/mL.

Solução padrão: preparar solução, em água isenta de material orgânico, contendo 0,04 µg/mL de benzeno, 12,0 µg/mL de cloreto de metileno, 1,2 µg/mL de clorofórmio, 7,6 µg/mL de dioxano e 1,6 µg/mL de tricloroetileno.

Injetar replicatas de 1 µL da *Solução padrão*. A resolução entre quaisquer dos componentes é, no mínimo, 1,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 15,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. As áreas sob os picos obtidos com a *Solução amostra*, relativas ao benzeno, cloreto de metileno, clorofórmio, dioxano e tricloroetileno não devem ser superiores às áreas sob os picos relativos ao benzeno, cloreto de metileno, clorofórmio, dioxano e

tricloroetileno obtidos com a *Solução padrão*, correspondendo a, no máximo, 2 ppm, 600 ppm, 60 ppm, 380 ppm e 80 ppm, respectivamente.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a 105 ºC, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Dissolver 0,3 g da amostra em 10 mL de água. Titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente, usando eletrodo indicador de prata e eletrodo de referência de prata/cloreto de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 37,029 mg de $C_{17}H_{24}BrNO_3$.

B. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,7 g da amostra e dissolver em mistura de 50 mL de ácido acético glacial e 10 mL de acetato de mercúrio SR. Adicionar uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até mudança de cor de azul para verde-azulada. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 37,029 mg de $C_{17}H_{24}BrNO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

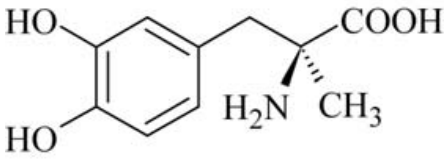
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticolinérgico.

METILDOPA

Methyldopum



$C_{10}H_{13}NO_4$; 211,22
metildopa; 05799
3-Hidroxi-*α*-metil-L-tirosina
[*555-30-6*]

$C_{10}H_{13}NO_4.1½H_2O$; 238,24
metildopa sesqui-hidratada; 09496
3-Hidroxi-*α*-metil-L-tirosina hidratada (2:3)
[*41372-08-1*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{10}H_{13}NO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou branco amarelado, ou cristais incolores ou quase incolores.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, em ácido acético glacial e em álcool metílico, muito pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: –25 a –28, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 4,4% (p/v) em cloreto de alumínio SR.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metildopa SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,004% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo em 280 nm, calculado em relação à substância anidra. A absorvância difere, no máximo, 3% em relação à de solução de metildopa SQR, preparada de maneira idêntica.

C. Adicionar, a 10 mg da amostra, três gotas de ninidrina a 0,4% (p/v) em ácido sulfúrico. Após 10 a 15 minutos, desenvolve-se coloração violeta escura. Adicionar três gotas de água. A coloração muda para castanho-amarelada pálida.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver 1 g da amostra, sob aquecimento, em água isenta de dióxido de carbono. Adicionar uma gota de vermelho de metila SI e titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* até o desenvolvimento de coloração amarela. No máximo, 0,5 mL de titulante são gastos para a viragem do indicador.

Limite de 3-*O*-metilmetildopa. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando celulose cromatográfica, com espessura de 0,25 mm, como suporte, e mistura de álcool butílico, ácido acético glacial e água (65:15:25), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL da *Solução (1)* e 10 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,1 g da amostra em álcool metílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente, obtendo solução a 10 mg/mL.

Solução (2): dissolver 5 mg de 3-*O*-metilmetildopa SQR em álcool metílico e diluir para 50 mL com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar sob ar aquecido. Nebulizar com *p*-nitroanilina e nitrito de sódio SR e secar sob ar aquecido. Nebulizar com carbonato de sódio decaidratado a 20% (p/v). Qualquer mancha correspondente à 3-*O*-metilmetildopa obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,2 g da amostra. Entre 10,0% e 13,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra e dissolver em 25 mL de ácido acético glacial, aquecendo se necessário. Adicionar 50 mL de acetonitrila, 0,1 mL de cloreto de metilrosanilínio SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV até viragem do indicador para azul. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 21,122 mg de $C_{10}H_{13}NO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo.

METILDOPA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}NO_4$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 10 mg de metildopa. Adicionar três gotas de ninidrina a 0,4% (p/v) em ácido sulfúrico. Após 10 a 15 minutos, desenvolve-se coloração violeta escura. Adicionar três gotas de água. A coloração muda para castanho-amarelada pálida.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 10 mg de metildopa, adicionar 2 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*, 2 mL de tartarato ferroso SR e 0,25 mL de hidróxido de amônio 6 *M*. Desenvolve-se coloração violeta escura.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 20 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 280 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}NO_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de metildopa SQR na concentração de 0,005% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}NO_4$ se dissolvem em 20 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de metildopa para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de metildopa SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL, dissolver e completar o volume com ácido sulfúrico 0,05 *M* e homogeneizar. Transferir, separadamente, 5 mL das soluções padrão e

amostra para balões volumétricos de 100 mL. Preparar branco em paralelo utilizando 5 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*. Adicionar, a cada balão, 5 mL de tartarato ferroso SR e completar o volume com tampão acetato de amônio pH 8,5. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 520 nm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}NO_4$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

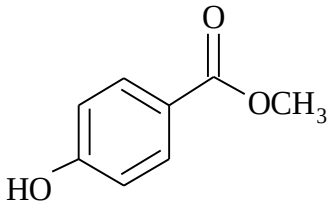
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

METILPARABENO

Methylis parahydroxybenzoas



$C_8H_8O_3$; 152,15
metilparabeno; 05809
Éster metílico do ácido 4-hidroxibenzoico
[*99-76-3*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_8O_3$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou incolor.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em acetona, em álcool etílico e em éter etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 125 ºC a 128 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metilparabeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 280 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 258 nm. A absorvância em 258 nm é de 0,52 a 0,56.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em álcool etílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez. A 2 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 3 mL de álcool etílico, 5 mL de água isenta de dióxido de carbono e 0,1 mL de verde de bromocresol SI. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* é gasto para promover a viragem do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido fórmico anidro, acetato de etila e cloreto de metileno (2:10:88), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,1 g da amostra em álcool metílico e diluir para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar sob corrente de ar quente. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra, transferir para erlenmeyer provido de rolha esmerilhada e adicionar 20 mL de hidróxido de sódio *M* SV. Adaptar condensador de refluxo e aquecer a 70 °C por uma hora. Resfriar à temperatura ambiente. Titular o excesso de hidróxido de sódio *M* SV com ácido sulfúrico 0,5 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente, continuando a titulação até o segundo ponto de inflexão. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 152,150 mg de $C_8H_8O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

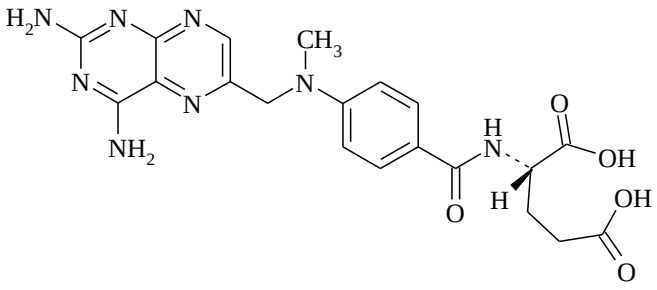
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Conservante.

METOTREXATO

Methotrexatum



$C_{20}H_{22}N_8O_5$; 454,45
metotrexato; 05884
Ácido *N*-[4-[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-*L*-glutâmico
[*59-05-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{20}H_{22}N_8O_5$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino alaranjado ou amarelo, higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos e carbonatos, pouco solúvel em solução de ácido clorídrico 6 *M*.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +19,0 a +24,0, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 10 mg/mL em carbonato de sódio 0,05 *M* usando tubo de 2,0 dm.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metotrexato SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M* há máximos e mínimos de absorção idênticos aos observados no espectro de metotrexato SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir:

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra, pesada com exatidão, para balão volumétrico de 100 mL e diluir com *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de metotrexato SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução a 5,0 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Registrar o cromatograma da *Solução (1)* por, no máximo, três vezes o tempo de retenção do metotrexato. A soma das áreas sob os picos, exceto a sob o metotrexato obtido na *Solução (1)*, é inferior a quatro vezes a área sob o pico principal da *Solução (2)* (2,0%) e a área sob nenhum pico é maior que a sob o pico obtido com a *Solução (2)* (0,5%).

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 302 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada a albumina bovina (espessura de 7 µm e diâmetro dos poros de 30 nm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 500 mL de solução de fosfato de sódio dibásico anidro, a 0,71% (p/v) e 600 mL de solução de fosfato de sódio monobásico a 0,69% (p/v). Ajustar o pH para 6,9 com hidróxido de sódio 2 *M*. Misturar 920 mL dessa solução com 80 mL de álcool isopropílico.

Solução (1): dissolver, quantitativamente, cerca de 20 mg da amostra em *Fase móvel* e completar a 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com a *Fase móvel*.

Solução de resolução: dissolver, quantitativamente, cerca de 4 mg de (RS)-metotrexato em *Fase móvel* e completar a 100 mL com o mesmo solvente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre o pico do (S)-metotrexato e do (R)-metotrexato é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O teor de (R)-metotrexato na *Solução (1)* em comparação com metotrexato contido na *Solução (2)* é, no máximo, 3,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 1,0 g da amostra. Proceder conforme descrito a seguir.

Preparação amostra: transferir amostra para cadinho de sílica e misturar com 4 mL de solução de sulfato de magnésio a 25% (p/v) em ácido sulfúrico a 5,5% (v/v). Aquecer cuidadosamente. Se a mistura estiver líquida, evaporar até secura em banho-maria. Aquecer progressivamente para incinerar em temperatura de, no máximo, 800 °C até obter resíduo branco ou cinzento. Resfriar e umedecer o resíduo com algumas gotas de ácido sulfúrico a 5,5% (v/v). Evaporar, incinerar e resfriar. O período total de incineração deve ser de , no máximo, de duas horas. Dissolver o resíduo obtido com duas porções de 5 mL de ácido clorídrico 0,2 *M* e acrescentar 0,1 mL de fenolftaleína SI. Adicionar solução concentrada de amônia até que se desenvolva cor rósea. Deixar esfriar e descorar a solução com ácido acético glacial. Acrescentar 0,5 mL do ácido em excesso, filtrar, se necessário, e diluir a solução com água para volume de 20 mL.

Preparação padrão: preparar conforme descrito para a *Preparação amostra*, utilizando 5 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb)* ao invés da amostra. A 10 mL de solução obtida, adicionar 2 mL da *Preparação amostra*.

Preparação de monitoramento: preparar conforme descrito para a *Preparação amostra*, adicionando à substância a ser examinada 5 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb*). A 10 mL da preparação obtida, adicionar 2 mL da *Preparação amostra.*

Solução branco: mistura de 10 mL de água e 2 mL da *Preparação amostra.*

Procedimento: transferir 12 mL de cada solução obtida para tubo de Nessler, adicionar 2 mL de *Tampão acetato pH 3,5* e homogeneizar imediatamente. Em cada um dos tubos, adicionar 1,2 mL de *Reagente de tioacetamida* e homogeneizar. A cor marrom na *Preparação amostra* não deve ser mais intensa do que na *Preparação padrão*. Na *Preparação padrão* deve existir coloração marrom claro quando comparada à *Solução branco*. A *Preparação de monitoramento* apresenta coloração ,no mínimo, tão intensa quanto a *Preparação padrão.* No máximo, 0,005% (50 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar segundo *Método direto*. Utilizar 0,1 g de amostra. No máximo, 12,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 302 nm, coluna cromatográfica de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 6,0: preparar solução de fosfato de sódio dibásico 0,2 *M* e ácido cítrico anidro 0,1 *M* (63:37). Ajustar para pH 6,0, se necessário, com ácido cítrico anidro 0,1 *M* ou fosfato dibásico de sódio 0,2 *M*.

Fase móvel: preparar mistura de *Tampão fosfato pH 6,0* com acetonitrila (90:10). Desgaseificar e filtrar. Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra: transferir 25 mg da amostra, pesada com exatidão, para um balão volumétrico de 250 mL. Diluir com *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de metotrexato SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução a 0,1 mg/mL.

Solução de resolução: preparar uma solução a 0,1 mg/mL de metotrexato SQR e a 0,1 mg/mL de ácido fólico em *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são 0,35 para ácido fólico e 1,0 para metotrexato. A resolução entre os picos de metotrexato e ácido fólico é, no máximo, 8,0. Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,5% para metotrexato.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a o teor de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

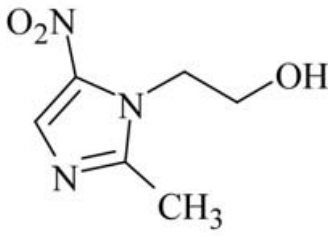
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antineoplásico.

METRONIDAZOL

Metronidazolum



$C_6H_9N_3O_3$; 171,16
metronidazol; 05902
2-Metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-etanol
[*443-48-1*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_9N_3O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou levemente amarelado.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 159 ºC a 163 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metronidazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da substância em 10 mL de ácido clorídrico a 50% (v/v). A preparação é límpida **(5.2.25)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as soluções teste como descrito a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL de metronidazol em *Fase móvel*.

Solução (2): solução a 1 µg/mL de metronidazol SQR e 2 µg/mL de 2-metil-5-nitroimidazol em *Fase móvel*.

Injetar replicatas (no mínimo, seis) de 30 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são

cerca de 0,75 para 2-metil-5-nitroimidazol e 1,0 para metronidazol. A resolução entre o pico de metronidazol e 2-metil-5-nitroimidazol é, no mínimo, 2,0. O fator de cauda para o pico do metronidazol é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 6,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 30 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Determinar a porcentagem de cada uma das impurezas encontradas na *Solução (1)*, onde o conteúdo individual de 2-metil-5-nitroimidazol é, no máximo, 0,1%, em relação ao metronidazol. A porcentagem máxima tolerada é de 0,1% para outras impurezas individuais e de, no máximo, 0,2% para a soma de todas as impurezas presentes.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,3 g da amostra, previamente dessecada, em 20 mL de anidrido acético e aquecer lentamente se necessário. Resfriar, adicionar uma gota de verde malaquita SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando microbureta, até mudança de cor para amarelo-esverdeada. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Alternativamente, determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 17,116 mg de $C_6H_9N_3O_3$.

B. Proceder como descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 319 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octilsilano (5 µm), mantida à 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (1:4).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 100 mg de amostra, transferir para balão volumétrico e completar o volume para 100 mL com *Fase móvel*. Diluir 3 mL da solução resultante para 100 mL com a *Fase móvel*.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de metronidazol SQR na *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 30 µg/mL.

Injetar replicatas de 30 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda para o pico do metronidazol é, no máximo, 2,0 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 30 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_6H_9N_3O_3$ na amostra a partir das respostas obtidas com o metronidazol com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

METRONIDAZOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_9N_3O_3$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.**, **C.** e **D**. Os testes de identificação **C.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **B**.*

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de metronidazol com 40 mL de clorofórmio por 15 minutos. Filtrar e evaporar o filtrado até secura. Prosseguir conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Metronidazol*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de metronidazol, aquecer em banho-maria com 10 mg de zinco em pó, 1 mL de água e 0,25 mL de ácido clorídrico durante cinco minutos. Resfriar em banho de gelo e adicionar 0,5 mL de nitrito de sódio SR. Remover o excesso de nitrito com ácido sulfâmico. Adicionar 0,5 mL de 2-naftol SR1 e 2 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*. Desenvolve-se coloração vermelho-alaranjada.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,2 g de metronidazol com 4 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M*. Filtrar. Ao filtrado, adicionar 10 mL de ácido pícrico SR e deixar em repouso. O ponto de fusão do precipitado, após ser lavado com água e secado a 105 °C, é de aproximadamente 150 °C.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 250 mL. Adicionar 100 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v) e agitar durante 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar, descartando os primeiros 15 mL do filtrado. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*, a partir de "Realizar diluições sucessivas...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 1000 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 274 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_9N_3O_3$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de metronidazol SQR na concentração de 0,002% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 85% (Q) da quantidade declarada de $C_6H_9N_3O_3$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de 2-metil-5-nitroimidazol. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, dimetilformamida e ácido fórmico a 90% (v/v) (80:25:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 20 comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,2 g de metronidazol com 5 mL de mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1) por cinco minutos. Filtrar.

Solução (2): solução de 2-metil-5-nitroimidazol SQR a 0,2 mg/mL em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha correspondente a 2-metil-5-nitroimidazol obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,2 g de metronidazol para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v). Agitar, mecanicamente, por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,002% (p/v), utilizando ácido clorídrico a 1% (v/v) como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 278 nm, utilizando ácido clorídrico a 1% (v/v) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_9N_3O_3$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (3 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e álcool metílico (80:20).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,5 g de metronidazol para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de álcool metílico e agitar mecanicamente por 30 minutos. Completar o volume com álcool metílico e esperar decantar. Transferir 5 mL do sobrenadante para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: solução a 0,5 mg/mL de metronidazol SQR em *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de réplicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatograma e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_6H_9N_3O_3$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

METRONIDAZOL SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_9N_3O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume da solução injetável equivalente a cerca de 0,1 g de metronidazol para funil de separação e agitar com 9 g de cloreto de sódio por cinco minutos. Extrair com 20 mL de acetona. Separar a camada superior e evaporar até a secura. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metronidazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,35 UE/mg de metronidazol.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução injetável equivalente a 50 mg de metronidazol para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 277 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_6H_9N_3O_3$ na solução injetável a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 320 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); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico a 0,073% (p/v) e álcool metílico (93:7). Ajustar o pH em 4,0 ± 0,5 com ácido fosfórico 0,1 *M*.

Solução amostra: transferir volume de solução injetável equivalente a 25 mg de metronidazol para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Transferir 2 mL da solução obtida para balão volumétrico de 10 mL contendo 2 mL de álcool metílico e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de metronidazol SQR para balão volumétrico de 25 mL, dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 2 mL da solução obtida para balão volumétrico de 10 mL contendo 2 mL de água e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_6H_9N_3O_3$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

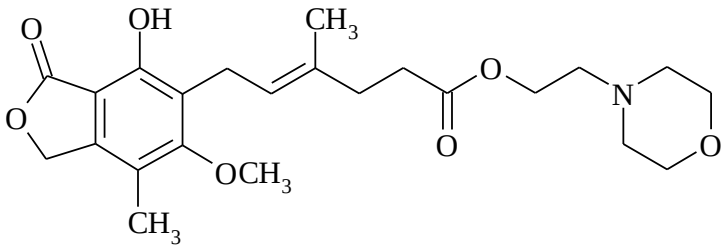
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MICOFENOLATO DE MOFETILA

Mycophenolas mofetil



$C_{23}H_{31}NO_7$; 433,50
micofenolato de mofetila; 00290
2-(morfolin-4-il)etil (4*E*)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato.
[*128794-94-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de ($C_{23}H_{31}NO_7$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool etílico anidro.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão **(5.2.2)**: entre 93 ºC e 94 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de micofenolato de mofetila SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,10 g da amostra em álcool etílico e diluir para 10 mL utilizando o mesmo solvente. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 45 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto. Preparar as soluções imediatamente antes do uso ou conservar entre 4 ºC e 8 ºC. Proteger as soluções da luz. Manter o amostrador do cromatógrafo à temperatura de 10 ºC e conservar as soluções para injeção a essa temperatura durante 15 minutos antes de injetar.

Solução de trietilamina: transferir 3 mL de trietilamina para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Ajustar o pH para 5,3 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura da *Solução de trietilamina* e acetonitrila (65:35).

Solução (1): dissolver 20 mg da amostra em acetonitrila, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetonitrila. Diluir 1 mL da solução resultante para 10 mL com acetonitrila e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 5 mg de micofenolato de mofetila para identificação dos picos SQR contendo as impurezas A (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-(4,6-diidroxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato), B (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-[(1RS)-4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-1-[2-(morfolin-4-il)etoxi]-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il]-4-metilhex-4-enoato), D (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-(4,6-dimetoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato), E (metil(4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato), F (ácido(4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoico ou ácido micofenólico), G (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato N-óxido) e H (7-hidroxi-5-metoxi-4-metil-6-[2-[(2RS)-2-metil-5-oxotetrahidrofuran-2-il]etil]isobenzofuran-1(3H)-ona) em acetonitrila e diluir para 2,5 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)*, da *Solução (2)* e da *Solução (3)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico principal. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,3 para impureza F, 0,4 para impureza A, 0,5 para impureza H, 0,6 para impureza G, 0,8 para impureza B, 1,0 para o micofenolato de mofetila, 1,2 para impureza D e 1,6 para impureza E. O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar resolução de, no mínimo, 2,0 entre os picos da impureza H e da impureza A. Para o cálculo do teor da impureza B, multiplicar a área sob o pico por 2,1. A área sob o pico da impureza F obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, cinco vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%); a área sob o pico da impureza B obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%) e as áreas sob os picos das impurezas A, D, E, G e H obtidos com a *Solução (1)* são, no máximo, iguais a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). Para qualquer outra impureza, a área sob o pico da impureza obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, igual à área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,1%). O total de impurezas é, no máximo, sete vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,7%). O limite de exclusão é de 0,5 vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,400 g da amostra em 50 mL de ácido acético anidro e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 43,350 mg de $C_{23}H_{31}NO_7$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Imunossupressor.

MICOFENOLATO DE MOFETILA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada $C_{23}H_{31}NO_7$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Agitar, mecanicamente, até desintegração e, após, deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,0025% (p/v), utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 250 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{23}H_{31}NO_7$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 15 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 250 nm **(5.2.14)**, utilizando *Meio de dissolução* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{23}H_{31}NO_7$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de micofenolato de mofetila SQR na concentração de 0,0022% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{23}H_{31}NO_7$ se dissolvem em 15 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* e a *Solução teste* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de micofenolato de mofetila para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de micofenolato de mofetila SQR na *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,0025 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para o micofenolato de mofetila e 2,4 para o ácido micofenólico. Calcular, individualmente, as porcentagens das impurezas segundo a expressão:

$$\left(\frac{C_p}{C_t}\right) \times \left(\frac{r_t}{r_p}\right) \times \left(\frac{1}{F}\right) \times 100$$

em que

C_p = concentração, em mg/mL, de micofenolato de mofetila na *Solução (2)*;
C_t = concentração, em mg/mL, de micofenolato de mofetila na *Solução (1)*;
r_p = resposta sob o pico de micofenolato de mofetila na *Solução (2)*;
r_t = área sob o pico de ácido micofenólico ou de outras impurezas na *Solução (1)*;
F = fator de correção.

Utilizar 1,4 como fator de correção para o cálculo da porcentagem de ácido micofenólico e 1,0 para outras impurezas. No máximo, 0,5% de ácido micofenólico e 0,1% para outras impurezas individuais e 0,7% de impurezas totais.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 250 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 45 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto. Preparar as soluções imediatamente antes do uso ou conservar entre 4 ºC e 8 ºC. Proteger as soluções da luz.

Solução de trietilamina: transferir 10 mL de trietilamina para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água. Ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura da *Solução de trietilamina* e acetonitrila 70:30 (v/v).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de micofenolato de mofetila para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar. Diluir, quantitativamente, de modo a obter solução a 50 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de micofenolato de mofetila SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 50 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{23}H_{31}NO_7$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

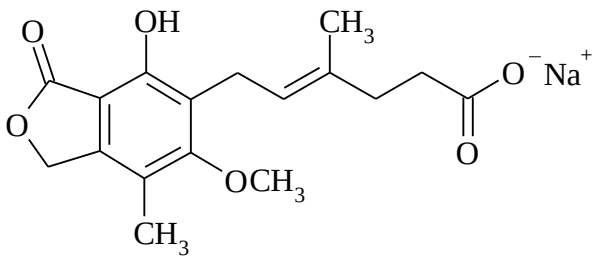
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MICOFENOLATO DE SÓDIO

Mycophenolas natrium



$C_{17}H_{19}NaO_6$; 342,32
micofenolato de sódio; 00291
Sal sódico de 6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-5-ftalanil)-4-metil-4-ácido hexanoico
[*37415-62-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de ($C_{17}H_{19}NaO_6$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e em álcool etílico, solúvel em álcool metílico. Praticamente insolúvel em ácido clorídrico 0,1 *M* e facilmente solúvel em hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: entre 189 ºC e 191 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de micofenolato de sódio SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A solução da amostra a 1,0% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 216 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 3,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada agrupo octadecilsilano (5 µm), mantida à 50 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Eluente A: mistura de acetonitrila, ácido fosfórico e água (100:0,2:900). Desgaseificar e filtrar.

Eluente B: mistura de acetonitrila, ácido fosfórico e água (800:0,2:200). Desgaseificar e filtrar.

Diluente: mistura de água e álcool metílico (90:10).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 35	90 → 10	10 → 90	gradiente linear
35 – 40	10	90	isocrática
40 – 45	10 → 90	90 → 10	gradiente linear

Solução (1): solução da amostra contendo micofenolato de sódio a 0,08 mg/mL em *Diluente*. Proteger contra a ação da luz.

Solução (2): solução de micofenolato de sódio SQR a 0,08 mg/mL em *Diluente*. Proteger contra a ação da luz.

Solução (3): transferir, quantitativamente, cerca de 1 mg de substância relacionada B de micofenolato de mofetila ((RS)-7-hidroxi-5-metoxi-4-metil-6-[2-(5-metil-2-oxo-tetrahidrofuran-5-il)etil]-3H-isobenzofuranil-1-ona) para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em 5 mL de álcool metílico e completar o volume com água. transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluente*.

Solução (4): solução de micofenolato de sódio SQR a 0,08 mg/mL em *Solução (3)*.

Solução (5): solução de micofenolato de sódio SQR a 0,024 µg/mL diluída em *Diluente*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (4)*. Os tempos de retenção relativos são 0,9 para a substância relacionada B de micofenolato de mofetila e 1,0 para o micofenolato de sódio. A resolução entre os picos de micofenolato de sódio e da substância relacionada B de micofenolato de mofetila é, no mínimo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2%. Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (5)*. A relação sinal/ruído é superior a 10.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cada substância relacionada por meio da seguinte expressão:

$$(Ai/Ap) \times (Cp/Ca) \times 100$$

em que

Ai = área sob o pico de cada substância relacionada no cromatograma obtido com a *Solução (1)*;
Ap = área sob o pico relativo ao micofenolato de sódio no cromatograma obtido com a *Solução (2)*;
Cp = concentração, em mg/mL, de micofenolato de sódio, na *Solução (2)*;
Ca = concentração, em mg/mL, de micofenolato de sódio, na *Solução (1)*.

No máximo, 0,1% de substância relacionada B de micofenolato de mofetila, no máximo, 0,07% para outra impureza individual e, no máximo, 0,4% para a soma de todas as impurezas. Não considerar picos relativos ao solvente ou com área inferior a 0,05%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 250 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e ácido fosfórico 0,05% (v/v) (55:45).

Diluente: mistura de álcool metílico e água (55:45).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 22,5 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 30 mL de *Diluente*, deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com *Diluente*. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido micofenólico SQR em álcool metílico de modo a obter solução equivalente a 0,45 mg/mL de micofenolato de sódio. Transferir 2 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{17}H_{19}NaO_6$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Imunossupressor.

MICOFENOLATO DE SÓDIO COMPRIMIDOS

Os comprimidos com revestimento entérico devem conter, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de ácido micofenólico ($C_{17}H_{20}O_6$).

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 100 mg de micofenolato de sódio com 10 mL de água. Filtrar. Satisfaz ao teste 1 do íon sódio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Estágio ácido:
Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M* e hidróxido de sódio 0,1 *M*.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 120 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias das soluções em 250 nm **(5.2.14)**, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{20}O_6$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da *Solução de ácido micofenólico padrão (1)*, preparada conforme descrito a seguir.

Solução de ácido micofenólico padrão (1): pesar, com exatidão, cerca de 11,25 mg de ácido micofenólico SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e completar o volume com álcool metílico. Diluir com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração de 0,0018% (p/v).

Tolerância: no máximo, 2,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{20}O_6$ se dissolvem em 120 minutos.

Estágio tampão:

Meio de dissolução: Após a retirada da alíquota do *Estágio ácido*, adicionar 250 mL de *Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M*, preparado conforme descrito a seguir, e ajustar o pH em cada cuba para 6,8 utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* ou ácido clorídrico 0,1 *M*.
Aparelhagem: pás, 50 rpm
Tempo: 45 minutos.

Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M: dissolver 76,02 g de fosfato de sódio tribásico dodecaidratado em 1000 mL de água.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias das soluções em 250 nm **(5.2.14)**, utilizando mistura de ácido clorídrico 0,1 *M* e *Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M* (3:1) para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{20}O_6$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da *Solução de ácido micofenólico padrão (2)*, preparada conforme descrito a seguir.

Solução de ácido micofenólico padrão (2): pesar, com exatidão, cerca de 11,25 mg de ácido micofenólico SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e completar o volume com álcool metílico. Diluir, sucessivamente, com a mistura de ácido clorídrico 0,1 *M* e *Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M* (3:1) até concentração de 0,0018% (p/v).

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{20}O_6$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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* **(4.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e ácido fosfórico 0,05% (v/v) (55:45).

Diluente: mistura de álcool metílico e água (55:45).

Solução amostra: transferir cinco comprimidos para balão volumétrico de 500 mL, adicionar 275 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com água e filtrar. Realizar diluições sucessivas com *Diluente* até obter solução a 0,036 mg/mL de ácido micofenólico.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 11,25 mg de ácido micofenólico SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e completar o volume com álcool metílico. Diluir, sucessivamente, com *Diluente* até obter solução a 0,036 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{20}O_6$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

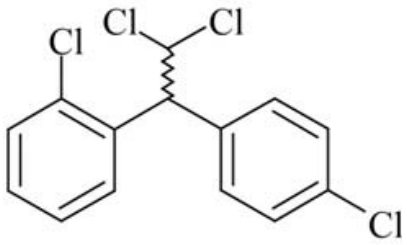
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MITOTANO
Mitotanum



$C_{14}H_{10}Cl_4$; 320,03
mitotano; 06020
1-Cloro-2-[2,2-dicloro-1-(4-clorofenil)etil]benzeno
[*53-19-0*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{14}H_{10}Cl_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó granulado branco, composto de cristais incolores agradável.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico, em álcool metílico e em óleos fixos e graxos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 75 °C a 81 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em cloreto de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de mitotano SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,02% (p/v) em álcool metílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de mitotano SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e dissolver em álcool metílico. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,02% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 268 nm, utilizando álcool metílico para o ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{14}H_{10}Cl_4$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Manusear com excepcional atenção.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antineoplásico.

MITOTANO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{14}H_{10}Cl_4$.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,5 g de mitotano em 10 mL de água. Filtrar em funil de vidro sinterizado e lavar o resíduo com duas porções de 5 mL de água. Transferir o resíduo para béquer pequeno, adicionar 4 mL de álcool etílico, aquecer até fervura e filtrar imediatamente. Resfriar, filtrar os cristais de mitotano, lavar uma vez com 2 mL de álcool etílico, e secar a 60 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de mitotano SQR, preparado de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). No máximo, 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar, com exatidão, quantidade de pó equivalente a cerca de 0,1 g de mitotano e transferir para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 100 mL de álcool metílico, agitar por cinco minutos, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar. Transferir 25 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar, de modo a obter solução a 0,02% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 268 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{14}H_{10}Cl_4$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

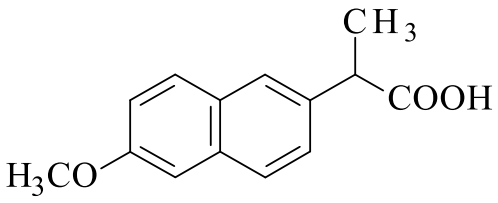
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NAPROXENO

Naproxenum



$C_{14}H_{14}O_3$; 230,26
naproxeno; 06233
Ácido (αS)-6-metoxi-α-metil-2-naftalenoacético
[*22204-53-1*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{14}H_{14}O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 154 °C a 158 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +59,0 a +62,0. Determinar em solução 2% (p/v) em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)**, da amostra dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de naproxeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução da amostra a 0,0025% (p/v) em álcool metílico, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de naproxeno SQR, preparado de maneira idêntica. A absortividade em 271 nm, calculada a partir do espectro obtido com a amostra dessecada, varia, no máximo, 3% em relação ao espectro obtido com a amostra de naproxeno SQR.

C. Dissolver cerca de 10 mg da amostra em 5 mL de álcool metílico, adicionar 5 mL de água, 2 mL de iodeto de potássio SR, 5 mL de uma solução de iodato de potássio (1:100) e homogeneizar. Uma coloração amarelo-amarronzada se desenvolve. Adicionar 5 mL de clorofórmio e homogeneizar. Uma leve coloração vermelha ou púrpura se desenvolve na camada de clorofórmio.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de hexano, cloreto de metileno, tetraidrofurano e ácido acético (50:30:17:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 100 mg da amostra, pesada com exatidão, em 10 mL de uma mistura de clorofórmio e álcool etílico (1:1).

Solução (2): transferir 2 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com mistura de clorofórmio e álcool etílico (1:1) e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para um balão de 50 mL, completar com o mesmo solvente e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma até que a frente da fase móvel ascenda 12 cm acima da linha de aplicação. Remover a placa, deixar secar ao ar. Observar sob luz ultravioleta. A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, pode ter intensidade máxima igual àquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 263 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica gel π-aceptor/π-doador (1-(3,5-dinitrobenzamido)-1,2,3,4-tetraidrofenantreno) para separação quiral (*S*,*S*) (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido acético glacial, acetonitrila, álcool isopropílico e hexano (0,5:5:10:84,5).

Solução (1): dissolver 25 mg da amostra em tetraidrofurano, diluir para 50 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 2 mL da solução para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (2): transferir 2,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 5 mg de naproxeno racêmico SQR (ácido (2R)-2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoico - enantiômero *R*) em 10 mL de tetraidrofurano e diluir para 100 mL com *Fase móvel*.

Injetar, separadamente, replicatas de 20 µL da *Solução (2)* e da *Solução (3)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A resolução entre os picos do naproxeno e do ácido (2R)-2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoico (impureza G) é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, uma e meia vez o tempo de retenção do naproxeno (tempo de retenção em torno de cinco minutos) e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico relativo ao ácido (2R)-2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoico (impureza G), obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, igual à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (2,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 200 mg da amostra e dissolver em uma mistura de 75 mL de álcool metílico e 25 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando fenolftaleína SI até formação de coloração violeta. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 23,026 mg de $C_{14}H_{14}O_3$. Realizar ensaio em branco e realizar as correções necessárias.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

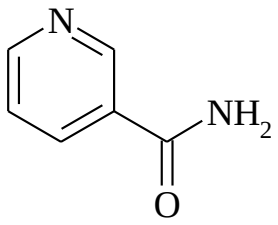
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico e anti-inflamatório

NICOTINAMIDA

Nicotinamidum



$C_6H_6N_2O$; 122,13
nicotinamida; 06346
Piridinacarboxiamida
[*98-92-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_6N_2O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em glicerol, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 128 ºC a 131 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)**, da amostra dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nicotinamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A razão entre os valores de absorvância **(5.2.14)** medidos em 245 nm e 262 nm de uma solução da amostra a 0,0002% (p/v) em água está compreendida entre 0,63 e 0,67.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de água, álcool etílico e clorofórmio (4:45:48), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 80 mg/mL da amostra em mistura de álcool etílico e água (50:50).

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução (1)*, para 200 mL em mistura de álcool etílico e água (50:50).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Examinar a placa. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,25%).

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método I*. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra, em dessecador sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não-aquoso* **(5.3.4.5)**. Dissolver 0,25 g da amostra previamente dessecada em 20 mL de ácido acético glacial, aquecendo se necessário. Adicionar 5 mL de anidrido acético, titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador, até coloração azul-esverdeada. Realizar ensaio em branco e proceder com as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 12,213 mg de $C_6H_6N_2O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz.

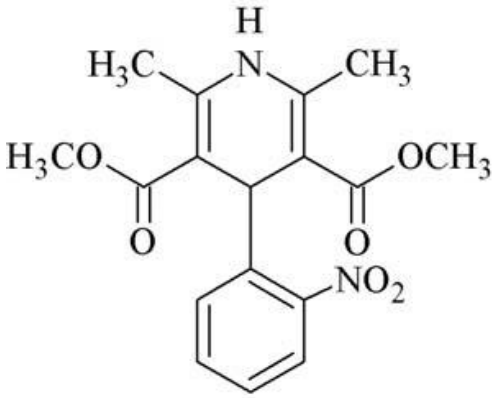
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Componente da vitamina B.

NIFEDIPINO
Nifedipinum



$C_{17}H_{18}N_2O_6$; 346,34
nifedipino; 06352
Éster 3,5-dimetílico do ácido 1,4-di-hidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-3,5-piridinadicarboxílico
[*21829-25-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais amarelos e insípidos.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 171 °C a 175 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nifedipino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir. Realizar os ensaios imediatamente após o preparo das soluções.

Solução (1): solução a 1 mg/mL de nifedipino SQR em álcool metílico.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* para 10 mL com a *Fase móvel*.

Solução (3): solução a 1 mg/mL de análogo de nifedipino nitrofenilpiridina SQR (dimetil 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato) em álcool metílico.

Solução (4): a partir da *Solução (3)* para preparar solução a 0,6 µg/mL de análogo de nifedipino nitrofenilpiridina SQR em *Fase móvel*.

Solução (5): so1ução a 1 mg/mL de análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina SQR (dimetil 4-(2-nitrosofenil)-2,6-dimetilpiridina-3,5-dicarboxilato) em álcool metílico.

Solução (6): a partir da *Solução (5)* para preparar solução a 0,6 µg/mL de análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina SQR em *Fase móvel*.

Solução (7): mistura de *Fase móvel*, *Solução (4)* e *Solução (6)* (1:1:1).

Solução (8): mistura de *Solução (2)*, *Solução (4)* e *Solução (6)* (1:1:1).

Injetar replicatas da *Solução (8)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,8 para análogo de nifedipino nitrofenilpiridina, 0,9 para análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina e 1,0 para nifedipino. A resolução entre nifedipino e análogo de nifedipino nitrofenilpiridina é, no mínimo, 1,5. A resolução entre nifedipino e análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina é, no mínimo, 1,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados de análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina e de análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina é, no máximo, 10,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução amostra de* Doseamento ***B***.*(1)* e da *Solução (7)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente ao análogo de nifedipino nitrofenilpiridina obtido com a *Solução amostra* não deve ser maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (7)* (0,2%). A área sob o pico correspondente ao análogo de nifedipino nitrosofenilpiridina obtido com a *Solução amostra* não deve ser maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (7)* (0,2%).

Cloretos (5.3.2.1). No máximo, 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). No máximo, 0,05% (500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**, ao abrigo da luz direta utilizando soluções recém-preparadas. Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg de amostra e dissolver em 70 mL de álcool etílico. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Diluir, sucessivamente, em álcool etílico, até concentração de 10 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir a absorvância das soluções resultantes em 236 nm, utilizando o álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, ao abrigo da luz direta, utilizando cromatógrafo provido de detector 235 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar uma mistura de água, acetonitrila e álcool metílico (50:25:25).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de amostra para balão volumétrico de 250 mL. Dissolver em 25 mL de álcool metílico, completar com *Fase móvel* e misturar de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Preparar no momento do uso.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nifedipino SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,1 mg/mL. Preparar no momento do uso.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão.* A eficiência da coluna é, no mínimo, 16 000 pratos teóricos/metro; o fator de cauda é, no máximo, 1,5 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, cerca de 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ na amostra a partir das respostas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vasodilatador.

NIFEDIPINO CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{18}N_2O_6$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, com espessura de 0,5 mm, como suporte, e mistura de acetato de etila e cicloexano (1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 0,5 mL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir o conteúdo de três cápsulas para tubo de centrífuga e lavar o interior das cápsulas com 20 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Adicionar, volumetricamente, 20 mL de cloreto de metileno ao tubo e tampar. Agitar suavemente e liberar a pressão no tubo. Tampar hermeticamente e agitar por uma hora. Centrifugar por 10 minutos entre 2000 e 2500 rpm. Remover a fase aquosa sobrenadante com seringa e transferir 5 mL da camada transparente inferior para béquer.

Solução (2): solução a 1,2 mg/mL de nifedipino SQR em cloreto de metileno.

Desenvolver o cromatograma ao abrigo da luz direta. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar imediatamente sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em cor, intensidade e posição àquela obtida com a *Solução (2)*. Nebulizar a placa com a *Solução reveladora*. Cada cromatograma apresenta banda alaranjado-clara sobre fundo amarelo.

Solução reveladora: dissolver 3 g de subnitrato de bismuto e 30 g de iodeto de potássio em 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 10 mL para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico 3 *M* e completar o volume com água. Homogeneizar.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir o conteúdo de cada cápsula para balão volumétrico de 200 mL. Lavar o interior das cápsulas com pequenas porções de álcool metílico, reunindo os líquidos de lavagem no balão. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 350 nm **(5.2.14)**, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: fluido gástrico simulado (sem pepsina), 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 50 rpm.
Tempo: 20 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com *Meio de dissolução* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 340 nm **(5.2.14)**, utilizando *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de nifedipino SQR na concentração de 0,005% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ se dissolvem em 20 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Nifedipino*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Nota: *proceder ao ensaio imediatamente após o preparo da Solução (1) e da Solução (5), protegendo-as da luz direta.*

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nifedipino SQR em álcool metílico, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nitrofenilpiridina SQR em álcool metílico, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 6 µg/mL.

Solução (3): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nitrosofenilpiridina SQR em álcool metílico, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir com *Fase móvel*, de modo a obter solução a 1,5 µg/mL.

Solução (4): misturar 5 mL da *Solução (2)*, 5 mL da *Solução (3)* e 5 mL de *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução (5): proceder como descrito para *Solução amostra* no método **B.** de *Doseamento*.

Solução (6): misturar volumes iguais da *Solução (1)*, Solução *(2)* e da *Solução (3)*.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução (6)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,8 para a nitrofenilpiridina, 0,9 para a nitrosofenilpiridina e 1,0 para o nifedipino. A resolução entre nitrosofenilpiridina e nitrofenilpiridina é, no mínimo, 1,5. A resolução entre nifedipino e nitrosofenilpiridina é, no mínimo, 1,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados correspondentes à nitrofenilpiridina e à nitrosofenilpiridina é, no máximo, 10,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução (4)* e da *Solução (5)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade, em mg, das impurezas nitrofenilpiridina e nitrosofenilpiridina nas cápsulas segundo a expressão:

$$\frac{V}{5} \times C \times \left(\frac{r_5}{r_4}\right)$$

em que

V = volume total, em mL, da *Solução (5)*;
C = concentração de nitrofenilpiridina ou de nitrosofenilpiridina, em mg/mL, na *Solução (4)*;

r_5 = área sob o pico referente à nitrofenilpiridina ou à nitrosofenilpiridina no cromatograma obtido com a *Solução (5)*;
r_4 = área sob o pico referente à nitrofenilpiridina ou à nitrosofenilpiridina no cromatograma obtido com a *Solução (4)*.

No máximo, 2,0% de nitrofenilpiridina e 0,5% de nitrosofenilpiridina, em relação ao conteúdo de nifedipino.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**, ao abrigo da luz direta. Transferir o conteúdo de 10 cápsulas para balão volumétrico de 100 mL. Lavar o interior das cápsulas com pequenas porções de álcool metílico, reunindo os líquidos de lavagem no balão. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir com álcool metílico até concentração de 0,005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 350 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Nifedipino*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir o conteúdo de cinco cápsulas para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequenas porções de álcool metílico. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL de nifedipino.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos principais. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{l8}N_2O_6$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

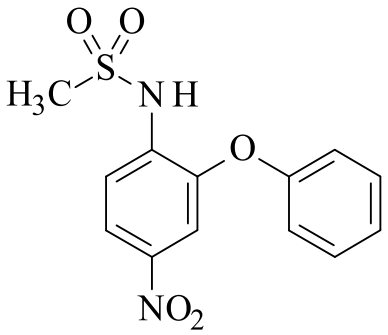
Em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da luz, em temperatura entre 15 ºC e 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NIMESULIDA

Nimesulidum



$C_{13}H_{12}N_2O_5S$; 308,31
nimesulida; 06391
N-(4-Nitro-2-fenoxifenil)metanossulfonamida
[*51803-78-2*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó amarelo-pálido, cristalino, levemente untuoso ao tato. Não higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico e em álcool metílico, muito solúvel em acetonitrila. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos. Insolúvel em soluções ácidas.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **C.** poderá ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **B**. O teste de identificação **B.** poderá ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **C**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada a 105 °C até peso constante, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nimesulida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254} ativada em estufa por 30 minutos a 105 °C, como suporte, e mistura de álcool metílico e acetonitrila (80:20), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 4 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 75 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com acetona. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 75 mg de nimesulida SQR, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com acetona. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde ao tempo de retenção do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,24 g da amostra, dissolver em 30 mL de acetona previamente neutralizada e adicionar 20 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 30,831 mg de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra, para balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com hidróxido de sódio 0,01 *M*. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,00015% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 392 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (50:50).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver na *Fase móvel* e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir sucessivamente, na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 20 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nimesulida SQR, na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 20 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

NIMESULIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Preparar solução de nimesulida a 0,01% (p/v) em clorofórmio. Filtrar. Evaporar o filtrado em banho-maria até secura. Dessecar o resíduo a 105 °C até peso constante. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Nimesulida*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos em 212 nm e 392 nm, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato de potássio pH 7,4 com polissorbato 80 a 2% (v/v), 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 392 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de nimesulida SQR na concentração de 0,0015% (p/v), preparada nos mesmos solventes que a amostra.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de nimesulida para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 60 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* e agitar por 40 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir, sucessivamente, até concentração de 0,002% (p/v), utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M*. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 392 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento* da monografia de *Nimesulida*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de nimesulida para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 60 mL da *Fase móvel* e agitar mecanicamente por 40 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e filtrar. Diluir, sucessivamente, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 20 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

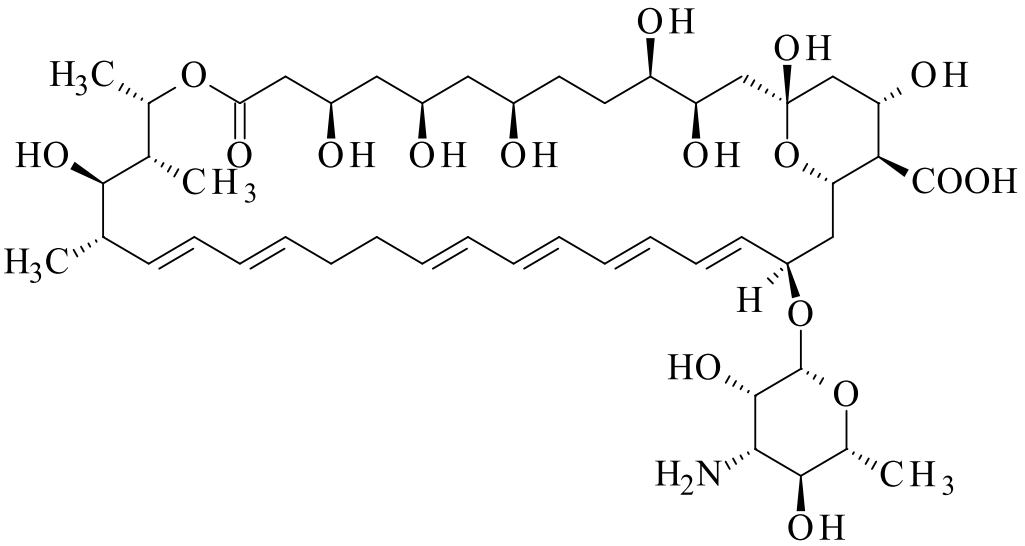
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NISTATINA

Nystatinum



$C_{47}H_{75}NO_{17}$; 926,11
nistatina; 06410
Nistatina
[*1400-61-9*]

Nistatina é uma substância ou a mistura de duas ou mais substâncias produzidas por *Streptomyces noursei* Brown *et al*. (*Streptomycetaceae*). Apresenta potência de, no mínimo, 4400 UI de nistatina por miligrama ou 5000 UI de nistatina por miligrama caso seja destinada à produção de pó para suspensão oral.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó higroscópico, fino, amarelo ou castanho.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool metílico e praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar, com exatidão, o equivalente a 100 000 UI da amostra e dissolver em mistura de 5 mL de ácido acético glacial e 50 mL de álcool metílico. Completar o volume para 100 mL com álcool metílico. Diluir em álcool metílico, até concentração de 40 UI/mL. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 350 nm, da solução obtida, há máximos em 230 nm, 291 nm, 305 nm e 319 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 291 nm e 305 nm está compreendida entre 0,61 e 0,73. A razão entre os valores de absorvância medidos em 319 nm e 305 nm está compreendida entre 0,83 e 0,96. A razão entre os valores de absorvância medidos em 230 nm e 280 nm está compreendida entre 0,83 e 1,25.

B. Adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico a 2 mg da amostra. Produz-se coloração castanha.

C. Adicionar 0,1 mL de ácido sulfúrico a 2 mg da amostra. Produz-se coloração castanha, que se torna violeta com o repouso.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 8,0. Determinar em suspensão aquosa a 3% (p/v).

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra por meio de ajuste micrométrico.

Nistatina A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Proteger da luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 304 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica desativada, quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Eluente A: acetato de amônio 0,05 *M* e acetonitrila (71:29).

Eluente B: acetato de amônio 0,05 *M* e acetonitrila (40:60).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 25	100	0	isocrática
25 – 35	100 → 0	0 → 100	gradiente linear
35 – 40	0	100	isocrática
40 – 45	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
45 – 60	100	0	equilíbrio

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em dimetilsulfóxido, para obter solução a 0,4 mg/mL. Utilizar essa solução em até, no máximo, 24 horas após o preparo, mantida sob refrigeração.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nistatina SQR em dimetilsulfóxido, para obter solução a 0,4 mg/mL. Utilizar essa solução em até, no máximo, 24 horas após o preparo, mantida sob refrigeração.

Solução (3): dissolver 20 mg de nistatina SQR em 25 mL de álcool metílico, diluir com água para 50 mL e homogeneizar. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico diluído em 10 mL da solução anteriormente preparada e esperar por uma hora, à temperatura ambiente, antes de usar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução (3).* O tempo de retenção médio para a nistatina A é de 14 minutos. A resolução entre os dois picos principais é, no mínimo, 3,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Desconsiderar os picos obtidos antes de dois minutos de corrida. No mínimo, 85% de nistatina A. No máximo, 4,0% de qualquer outro componente.

Metais pesados (5.3.2.3). Preparar solução padrão utilizando 2 mL da *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. Proceder conforme descrito em *Método IV*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, não excedendo a 5 mmHg, por três horas. No máximo, 5,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 3,5%.

Nistatina destinada à produção de pó para suspensão oral extemporânea cumpre com o seguinte teste adicional.

Dispersibilidade. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,2 g da amostra para béquer contendo 200 mL de água e dispersar lentamente com bastão de vidro. Deixar em repouso por dois minutos. O material deverá estar suspenso e haverá, no máximo, um pequeno sedimento. Se houver sedimentação, proceder à determinação da potência, da parte suspensa, conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**. Transferir, volumetricamente, a amostra suspensa para o liquidificador de alta velocidade, adicionar dimetilformamida, de modo a obter concentração de 400 UI/mL e agitar de três a cinco minutos. Diluir essa solução com *Tampão fosfato de potássio a 1%, estéril, pH 6,0 (Solução 1)* de modo a obter solução com concentração equivalente à do padrão. No mínimo, 90,0% da potência esperada de nistatina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, pelo método de difusão em ágar **(5.5.3.3.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, em temperatura entre 2 °C e 8 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

NISTATINA COMPRIMIDOS VAGINAIS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 140,0% da quantidade declarada de nistatina. Os comprimidos vaginais contêm agentes aglutinantes, diluentes e lubrificantes.

IDENTIFICAÇÃO

Pesar e pulverizar os comprimidos vaginais. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 000 UI de nistatina para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de ácido acético glacial e 50 mL de álcool metílico. Homogeneizar. Adicionar quantidade suficiente de álcool metílico para produzir 100 mL. Filtrar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com álcool metílico. Preparar ensaio em branco utilizando os mesmos solventes e omitindo a adição da amostra. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 350 nm, da solução obtida, há máximos em 291 nm, 305 nm e 319 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 291 nm e 305 nm está compreendida entre 0,61 e 0,73. A razão entre os valores de absorvância medidos em 319 nm e 305 nm está compreendida entre entre 0,83 e 0,96.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.2). No máximo, 60 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar e pulverizar os comprimidos vaginais. Determinar em 0,1 g da amostra, em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo, 5,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Proceder ao abrigo da luz direta. Pesar e pulverizar 20 comprimidos vaginais. Pesar quantidade do pó equivalente a 200 000 UI, adicionar 50 mL de dimetilformamida e agitar por uma hora. Centrifugar. Transferir 10 mL do sobrenadante para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com a solução 4 descrita em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NISTATINA CREME VAGINAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 130,0% da quantidade declarada de $C_{47}H_{75}NO_{17}$.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Nistatina*. Preparar *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: misturar, com exatidão, em liquidificador de alta velocidade, quantidade de creme vaginal com dimetilformamida, de modo a obter concentração de cerca de 400 UI/mL de nistatina. Diluir, sucessivamente, essa solução em *Tampão fosfato de potássio a 10%, estéril, pH 6,0 (Solução 4)* de modo a obter soluções na faixa de concentração adequada para a curva padrão.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NISTATINA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 130,0% da quantidade declarada de nistatina. A suspensão oral contém agentes aromatizantes, conservantes e dispersantes.

IDENTIFICAÇÃO

Transferir quantidade da suspensão oral contendo 100 000 UI de nistatina para balão volumétrico de 100 mL e adicionar mistura de ácido acético glacial e álcool metílico (5:50). Homogeneizar. Completar volume com álcool metílico e filtrar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com álcool metílico. Preparar ensaio em branco utilizando os mesmos solventes e omitindo a adição da amostra. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 350 nm, da solução obtida, há máximos em 291 nm, 305 nm e 319 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 291 nm e 305 nm está compreendida entre 0,61 e 0,73. A razão entre os valores de absorvância medidos em 319 nm e 305 nm está compreendida entre 0,83 e 0,96.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 6,0. Se o produto contiver glicerina, o pH deve estar compreendido entre 6,0 e 7,5.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Deve ser realizado caso o medicamento seja acondicionado em doses unitárias.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir o conteúdo de um frasco de suspensão oral para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Diluir, quantitativamente, essa solução, com álcool metílico, de modo a obter solução a 25 UI/mL de nistatina. Paralelamente, preparar solução de nistatina SQR, em álcool metílico, a 25 UI/mL. Medir as absorvâncias das soluções em 304 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de nistatina na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)** e *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1).**

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

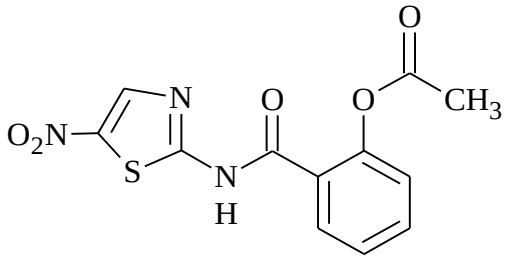
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NITAZOXANIDA

Nitazoxanidum



$C_{12}H_9N_3O_5S$; 307,28
nitazoxanida; 06413
2-Acetiloxi-*N*-(5-nitro-2-tiazolil)benzamida
[*55981-09-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{12}H_9N_3O_5S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a levemente amarelo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em acetonitrila, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Ponto de fusão **(5.2.2)**: 202 °C.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nitazoxanida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A**. de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, ao abrigo da luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica

quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Diluente: mistura de *Eluente A* e *Eluente B* (70:30).

Eluente A: acetonitrila.

Eluente B: água previamente ajustada para pH 2,5 com ácido fosfórico.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***
0	30	70
25,0	70	30
30,0	70	30
30,1	30	70
40,0	30	70

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Diluente* de modo a obter solução a 2,5 µg/mL de nitazoxanida.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de nitazoxanida SQR, de nitazoxanida substância relacionada A e de ácido acetilsalicílico no *Diluente* de modo a obter uma solução a 2,5 µg/mL de cada uma das três substâncias.

Injetar replicatas de 35 µL da *Solução (2)*. A resolução entre nitazoxanida substância relacionada A e ácido acetilsalicílico é de, no mínimo, 2,0. O fator de cauda é, no máximo, 2,0 para o pico da nitazoxanida. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados para nitazoxanida é, no máximo, 10,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 35 µL da *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza presente na amostra segundo a equação:

$$100\ (1/F)\ (Ai/Ap)\ (Cp/Ca)$$

em que

F = fator de resposta relativo para cada impureza;
Ai = área sob o pico correspondente a qualquer impureza individual obtida na *Solução (1)*;
Ap = área sob o pico correspondente ao nitazoxanida obtido na *Solução (2)*;
Cp = concentração, em mg/mL, de nitazoxanida na *Solução (2)*;
Ca = concentração, em mg/mL, de nitazoxanida na *Solução (1)*.

Os limites das impurezas são apresentados a seguir:

Impureza	***Tempo de retenção relativo***	***Fator de resposta relativo***	***Limite (%)***
Substância relacionada A de nitazoxanida (2-Amino-5-nitrotiazol)	0,35	0,46	0,1

Ácido acetilsalicílico (ácido 2-(acetiloxi)benzoico)	0,48	0,91	0,1
Ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzoico)	0,61	3,7	0,1
Nitazoxanida	1,0	-	-
Outras impurezas individuais	-	1,0	0,1

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**, ao abrigo da luz direta. Pesar, com exatidão, cerca de 120 mg da amostra e adicionar 50 mL de acetonitrila. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com água pH 4,5 previamente ajustada com ácido fosfórico 10% (v/v), até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 345 nm, utilizando água pH 4,5 para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{12}H_9N_3O_5S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, ao abrigo da luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 μm a 5 μm), mantida à temperatura de 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,1% (v/v), pH 5,3 previamente ajustado com trietilamina, e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg de amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar, obtendo solução a 30 μg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar, obtendo solução a 30 μg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna para o pico da nitazoxanida é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{12}H_9N_3O_5S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiparasitário.

NITAZOXANIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_9N_3O_5S$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, ao abrigo da luz direta, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de hexano e álcool etílico (60:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 10 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de acetonitrila. Levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de nitazoxanida SQR em acetonitrila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A**. de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio, mantido a 25 °C, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: proceder ao abrigo da luz direta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9N_3O_5S$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*, preparadas conforme descrito a seguir..

Solução amostra: após realização do teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em acetonitrila, de modo a obter solução a 27,77 µg/mL de nitazoxanida.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 13,88 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de acetonitrila, levar a banho de ultrassom durante 30 minutos e completar o volume com Tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio. Diluir, sucessivamente, com acetonitrila de modo a obter solução a 27,77 µg/mL de nitazoxanida.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_9N_3O_5S$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 15 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de acetonitrila. Levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água com pH previamente ajustado para 4,5 com ácido fosfórico 10% (v/v), obtendo solução a 12 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 345 nm, utilizando água com pH previamente ajustado para 4,5 com ácido fosfórico 10% (v/v) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9N_3O_5S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, ao abrigo da luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; pré-coluna (opcional) de 4,0 mm de comprimento e 3,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm); coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm a 5 µm), mantida à temperatura de 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,1% (v/v), pH 5,3 previamente ajustado com trietilamina, e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de acetonitrila e levar a banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Transferir 3 mL do filtrado para balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna para o pico da nitazoxanida é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9N_3O_5S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

NITAZOXANIDA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

O pó para suspensão oral é uma mistura de nitazoxanida com um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tampões, adoçantes e conservantes. Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_9N_3O_5S$.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, ao abrigo da luz direta, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de hexano e álcool etílico (60:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir quantidade de suspensão oral equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de acetonitrila. Levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de nitazoxanida SQR em acetonitrila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento,* há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida no método **B.** de *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó antes de reconstituir.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio, mantido a 25 °C , 900 mL.
Aparelhagem: pás, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: proceder ao abrigo da luz direta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9N_3O_5S$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*, preparadas conforme descrito a seguir.

Solução amostra: após realização do teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em acetonitrila, de modo a obter solução a 27,77 µg/mL de nitazoxanida.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 13,88 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de acetonitrila, levar a banho de ultrassom durante 30 minutos e completar o volume com tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio. Diluir, sucessivamente, com acetonitrila de modo a obter solução a 27,77 µg/mL de nitazoxanida.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_9N_3O_5S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 15 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de acetonitrila. Levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água com pH previamente ajustado para 4,5 com ácido fosfórico 10% (v/v), obtendo solução a 12 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 345 nm, utilizando água com pH previamente ajustado para 4,5 com ácido fosfórico 10% (v/v) para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9N_3O_5S$ na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, ao abrigo da luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; pré-coluna (opcional) de 4,0 mm de comprimento e 3,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm); coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm a 5 µm), mantida à temperatura de 25 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,1% (v/v) com pH previamente ajustado para 5,3 com trietilamina, e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de acetonitrila e levar a banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 3 mL do filtrado

para balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna para o pico da nitazoxanida é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{12}H_9N_3O_5S$ na suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

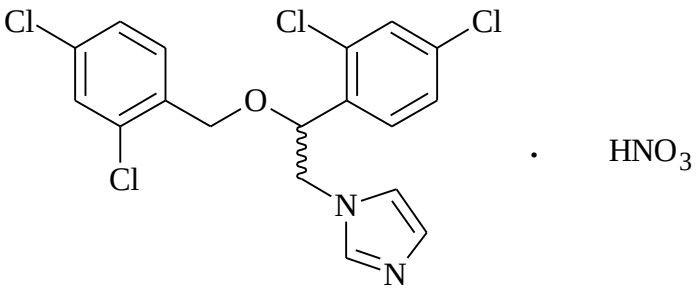
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

NITRATO DE MICONAZOL

Miconazoli nitras



$C_{18}H_{14}Cl_4N_2O.HNO_3$; 479,14
nitrato de miconazol; 05929
Nitrato de 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(2,4-diclorofenil) metoxi]etil]-1*H*-imidazol (1:1)
[*22832-87-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O.HNO_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool metílico e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 178 °C a 184 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -0,10 a +0,10, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

*O teste **A.** poderá ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**. O teste **B.** poderá ser omitido se forem realizados os testes **A.**, **C.** e **D**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nitrato de miconazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,04% (p/v) em mistura de ácido clorídrico 0,1 *M* e álcool isopropílico (1:10), há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de nitrato de miconazol SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel octadecilsilano, como suporte, e mistura de acetato de amônio SR, dioxano e álcool metílico

(20:40:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 6 mg/mL em fase móvel.

Solução (2): solução de nitrato de miconazol SQR a 6 mg/mL em fase móvel.

Solução (3): dissolver 30 mg de nitrato de miconazol SQR e 30 mg de nitrato de econazol SQR em 5 mL de fase móvel.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e vaporizar com iodo. Examinar sob luz visível. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* é similar em posição, cor e intensidade àquela produzida com a *Solução (2)*. O teste é válido somente se no cromatograma obtido com a *Solução (3)* houver duas manchas nitidamente separadas.

D. Satisfaz às reações para o íon nitrato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: pesar 6 g de acetato de amônio e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 300 mL de acetonitrila, 320 mL de álcool metílico e completar o volume com água.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução (2): transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de nitrato de miconazol SQR e 25 mg de nitrato de econazol SQR para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar. Diluir 2,5 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo diluente.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Diluir 5 mL dessa solução para 20 mL, completando o volume com *Fase móvel*.

Equilibrar o sistema cromatográfico por 30 minutos. Injetar 10 µL da *Solução (3)*. Ajustar o sistema cromatográfico de modo que a altura do pico principal obtida no cromatograma com a *Solução (3)*, seja menor que 50% da escala total. Injetar 10 µL da *Solução (2)*. O tempo de retenção do nitrato de miconazol é de aproximadamente 20 minutos e do nitrato de econazol de 10 minutos. A resolução entre os picos obtidos com a *Solução (2)* é, no mínimo, 10, se necessário ajustar a composição da *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (3)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, a área individual sob os picos, exceto o pico principal, não é maior do que a área sob o pico principal obtida com a *Solução (3)* (0,25%). A soma das áreas sob todos os picos registrados não é superior a duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Desconsiderar os picos com área

inferior a 0,2 vezes a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (3)* (0,05%) e os picos relativos ao íon nitrato.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 °C e 105 °C, por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,35 g da amostra previamente dessecada, dissolver em 50 mL de ácido acético glacial, aquecendo levemente se necessário, e titular potenciometricamente com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV consumido equivale a 47,914 mg de $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O.HNO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

NITRATO DE PRATA
Argenti nitras

$AgNO_3$; 169,87
nitrato de prata; 06427
Sal de prata(1+) do ácido nítrico (1:1)
[*7761-88-8*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $AgNO_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais grandes incolores, transparentes ou pequenos cristais brancos.

Solubilidade. Muito solúvel em água, solúvel em álcool etílico, ligeiramente solúvel em água amoniacal.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 10 mL de solução a 10% (p/v), adicionar uma gota de difenilamina SR e homogeneizar. Cuidadosamente, verter a solução para tubo de ensaio contendo 2 mL de ácido sulfúrico. Desenvolve-se coloração azul na interface.

B. A solução a 2% (p/v) satisfaz às reações do íon prata **(5.3.1.1)**.

C. A solução a 2% (p/v) satisfaz às reações do íon nitrato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez e alcalinidade. A 2 mL de solução a 4% (p/v), adicionar 0,1 mL de verde de bromocresol SI. Desenvolve-se coloração azul. A 2 mL de solução a 10% (p/v), adicionar 0,1 mL de vermelho de fenol SI. Desenvolve-se coloração amarela.

Alumínio, cobre, chumbo e bismuto. Dissolver 1 g da amostra em mistura de 4 mL de amônia 13,5 *M* e 6 mL de água. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Resíduo por evaporação. A 30 mL de solução a 4% (p/v), adicionar 7,5 mL de ácido clorídrico diluído, agitar vigorosamente, aquecer por cinco minutos em banho-maria e filtrar. Evaporar 20 mL do filtrado em banho-maria e dessecar o resíduo em estufa, entre 100 °C e 105 °C. No máximo, 2 mg (0,3%).

DOSEAMENTO

Dessecar previamente a amostra, sobre sílica, por quatro horas, ao abrigo da luz. Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra dessecada e dissolver em 50 mL de água. Adicionar 2 mL de ácido nítrico e 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR e homogeneizar. Titular com tiocianato de amônio 0,1 *M* SV até coloração amarelo-avermelhada. Cada mL de tiocianato de amônio 0,1 *M* SV equivale a 16,987 mg de $AgNO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

NITRATO DE PRATA SOLUÇÃO OFTÁLMICA

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% de $AgNO_3$. A solução oftálmica é tamponada pela adição de acetato de sódio.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução oftálmica satisfaz às reações do íon prata **(5.3.1.1)**.

B. A solução oftálmica satisfaz às reações do íon nitrato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. A solução oftálmica é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 6,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Transferir volume da solução oftálmica equivalente a 50 mg de nitrato de prata para erlenmeyer, diluir com 20 mL de água, adicionar 1 mL de ácido nítrico, 1 mL de sulfato férrico amoniacal SR e homogeneizar. Titular com tiocianato de amônio 0,02 *M* S até coloração amarelo-avermelhada. Cada mL de tiocianato de amônio 0,02 *M* SV equivale a 3,397 mg de $AgNO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

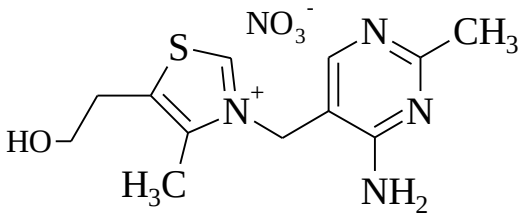
Em recipientes bem fechados, inertes, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NITRATO DE TIAMINA

Thiamini nitras



$C_{12}H_{17}N_5O_4S$; 327,36
nitrato de tiamina; 08514
Nitrato de 3[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil)metil]-5-(2-hidroxietil)4-metiltiazólio
[*532-43-4*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{17}N_5O_4S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **C.**, **D.** e **E.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **B.** O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.**, **D.** e **E.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nitrato de tiamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Preparar solução da amostra a 20 mg/mL. A 2 mL dessa solução, adicionar 2 mL de ácido sulfúrico. Resfriar e adicionar 2 mL de sulfato ferroso SR. Um anel marrom aparece na junção dos dois líquidos.

C. Dissolver 5 mg da amostra em mistura de 1 mL de acetato de chumbo SR e 1 mL de hidróxido de sódio 2,5 *M*. Aquecer em banho-maria por alguns minutos. Após a dissolução da amostra, uma cor amarela é produzida. Aquecer a solução, a cor altera para marrom e após repouso, um precipitado aparece.

D. Uma solução da amostra a 20 mg/mL produz um precipitado branco ao ser adicionada uma solução contendo 6,5 g de cloreto de mercúrio em 100 mL de água; e precipitado marrom-avermelhado ao adicionar iodo 0,1 *M* SV. Também há produção de um precipitado ao adicionar trinitrofenol SR.

E. Preparar solução dissolvendo 5 mg da amostra em 5 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*. A essa solução, adicionar 0,5 mL de ferrocianeto de potássio SR e 5 mL de álcool isobutílico. Agitar vigorosamente por dois minutos e possibilitar que as camadas líquidas se separem. Ao ser iluminada de cima por um feixe de luz vertical ultravioleta e ao ser visualizada em um ângulo reto, o menisco ar-líquido mostra uma fluorescência azul vívida, que desaparece quando é novamente alcalinizada.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 7,5. Determinar em solução da amostra a 2% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna cromatográfica de 150 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,75 mL/minuto.

Eluente A: 1-octanosulfonato de sódio 0,005 *M* em ácido acético glacial diluído (1:100).

Eluente B: álcool metílico e acetonitrila (3:2).

Fase móvel: mistura de *Eluente A* e *Eluente B* (60:40).

Solução amostra: solução a 1 mg/mL da amostra em *Fase móvel*.

Procedimento: injetar 10 μL da *Solução amostra* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o triplo do tempo de retenção do pico principal. Calcular a porcentagem total de picos secundários na porção de nitrato de tiamina utilizado de acordo com a seguinte expressão:

$$Porcentagem\ de\ impurezas = \left(\frac{r_U}{r_T}\right) \times 100$$

em que

r_U = soma das áreas sob todos os picos, com exceção da sob o pico referente ao nitrato de tiamina;
r_T = soma das áreas sob todos os picos.

No máximo, 1,0% de impurezas totais.

Cloretos (5.3.2.1). No máximo, 0,06% (600 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 140 mg de nitrato de tiamina, dissolver em 5 mL de ácido fórmico e adicionar 50 mL de anidrido acético. Titular imediatamente com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções

necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 16,368 mg de $C_{12}H_{17}N_5O_4S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamínico.

NITRITO DE SÓDIO

Natrii nitris

$NaNO_2$; 69,00
nitrito de sódio; 06433
Sal de sódio do ácido nitroso (1:1)
[*7632-00-0*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo 101,0% de $NaNO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó granuloso ou cristais hexagonais transparentes, incolores, ou ainda, massa branca, opaca e deliquescente.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 10% (p/v) satisfaz às reações do íon nitrito **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 10% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIO DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a 105 °C, por quatro horas. No máximo, 0,25%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em água e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 15 mL dessa solução para frasco contendo mistura de 50 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* SV, 100 mL de água e 5 mL de ácido sulfúrico. Ao adicionar a solução da amostra, imergir a ponta da pipeta sob a superfície da mistura de permanganato. Aquecer a mistura a 40 °C, deixar em repouso por cinco minutos e adicionar 25 mL de ácido oxálico 0,05 *M* SV. Aquecer a mistura até 80 °C e titular a quente com permanganato de potássio 0,02 *M* SV. Cada mL de permanganato de potássio 0,02 *M* SV equivale a 3,450 mg de $NaNO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

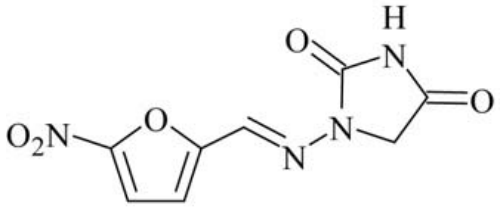
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vasodilatador; antídoto para envenenamento por cianeto.

NITROFURANTOÍNA

Nitrofurantoinum



$C_8H_6N_4O_5$; 238,16
nitrofurantoína; 06438
1-[[(5-Nitro-2-furanil)metileno]amino]-2,4-imidazolidinadiona
[*67-20-9*]

$C_8H_6N_4O_5.H_2O$; 256,17
nitrofurantoína monoidratada; 11389
1-[[(5-Nitro-2-furanil)metileno]amino]-2,4-imidazolidinadiona hidratada (1:1)
[*17140-81-7*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_8H_6N_4O_5$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amarelo cristalino ou cristais amarelos. Na forma sólida ou em solução, sofre descoramento por álcalis e por exposição à luz, e decomposição pelo contato com metais, exceto aço inoxidável e alumínio.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água e em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.**, **C.** e **E.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **D**. Os testes de identificação **A.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **E**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada a 140 °C por 30 minutos e dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nitrofurantoína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder ao abrigo de luz intensa. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos de absorção em 266 nm e em 367 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 367 nm e em 266 nm está compreendida entre 1,36 e 1,42.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Dissolver 10 mg da amostra em 10 mL de dimetilformamida. Transferir 1 mL da solução para tubo de ensaio e adicionar 0,1 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M*. Desenvolve-se coloração marrom.

E. Dissolver 5 mg da amostra em 5 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Uma solução de coloração amarela intensa é produzida, que passa em seguida a laranja-avermelhada.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica GF_{254}, como suporte, e mistura de nitrometano e álcool metílico (9:1) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,25 g da amostra em dimetilformamida e completar o volume para 10 mL com acetona.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar, aquecer entre 100 °C e 105 °C por cinco minutos. Examinar sob luz ultravioleta de 254 nm. Nebulizar com cloridrato de fenilidrazina SR. Aquecer novamente a placa entre 100 °C e 105 °C por 10 minutos. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Água (5.2.20). Dessecar a amostra à 140 °C por 30 minutos. No máximo, 1,0%, para a forma anidra e entre 6,5% e 7,5%, para a forma monoidratada.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme escrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14),** ao abrigo de luz intensa. Pesar, com exatidão, cerca de 0,12 g da amostra e dissolver em 25 mL de dimetilformamida. Completar o volume para 500 mL com água. Transferir 2,5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com uma solução contendo acetato de sódio a 1,8% (p/v) e ácido acético glacial a 0,14% (v/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir a absorvância da solução resultante em 367 nm, utilizando a solução de acetato de sódio e ácido acético, anteriormente descrita, para o ajuste do zero. Calcular o teor de $C_8H_6N_4O_5$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente, ajustar as condições cromatográficas para que o tempo de retenção do pico da nitrofurantoína seja de oito minutos.

Tampão fosfato pH 7,0: dissolver 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 500 mL de água e ajustar até pH 7,0, com hidróxido de amônio *M.* Completar o volume para 1000 mL com água e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 7,0* e tetraidrofurano (9:1). Filtrar e desgaseificar.

Solução de padrão interno: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de acetanilida em água, e diluir adequadamente, de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução amostra: dissolver, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra em 20 mL de dimetilformamida. Adicionar 25 mL de *Solução padrão interno*, completar o volume para 50 mL com dimetilformamida e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver, quantitativamente, cerca de 25 mg de nitrofurantoína SQR em 20 mL de dimetilformamida. Adicionar 25 mL de *Solução padrão interno*, completar o volume para 50 mL, com dimetilformamida e homogeneizar.

Injetar replicatas de 5 µL ou 10 µL da *Solução padrão*. A resolução entre acetanilida e nitrofurantoína é, no mínimo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL ou 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_8H_6N_4O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz, à temperatura inferior a 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

NITROFURANTOÍNA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_8H_6N_4O_5$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C**. Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se for realizado o teste **A**.*

A. Pesar e pulverizar os comprimidos revestidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,1 g de nitrofurantoína com 10 mL de ácido acético 6 *M*. Aquecer por alguns minutos e filtrar a quente. Esfriar à temperatura ambiente, recolher o precipitado e dessecar a 105 °C por uma hora até peso constante. O resíduo satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Nitrofurantoína*.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos em 266 nm e em 367 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 367 nm e em 266 nm está compreendida entre 1,36 e 1,42.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 7,2, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos e 120 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com meio de dissolução até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 375 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_6N_4O_5$ dissolvido no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de nitrofurantoína SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 25% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_6N_4O_5$ se dissolvem em 60 minutos e, no mínimo, 85% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_6N_4O_5$ se dissolvem em 120 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no teste *Substâncias relacionadas* da monografia de *Nitrofurantoína*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos revestidos. Dissolver quantidade do pó equivalente a 0,1 g de nitrofurantoína em 10 mL de mistura filtrada de dimetilformamida e acetona (1:9).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos revestidos. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento* da monografia de *Nitrofurantoína*, utilizando quantidade do pó equivalente a 0,12 g de nitrofurantoína. Calcular a quantidade de $C_8H_6N_4O_5$ nos comprimidos revestidos, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Nitrofurantoína*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos revestidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de nitrofurantoína para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 40 mL de dimetilformamida e agitar, mecanicamente, por 15 minutos. Adicionar 50 mL de *Solução padrão interno*, homogeneizar e deixar esfriar à temperatura ambiente. Completar o volume com dimetilformamida e homogeneizar. Filtrar em filtro de nylon de porosidade 0,45 μm.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 μL ou 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à nitrofurantoína e à acetanilida. Calcular a quantidade de $C_8H_6N_4O_5$ nos comprimidos revestidos, a partir das respostas obtidas para a relação nitrofurantoína/acetanilida, na *Solução padrão* e na *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

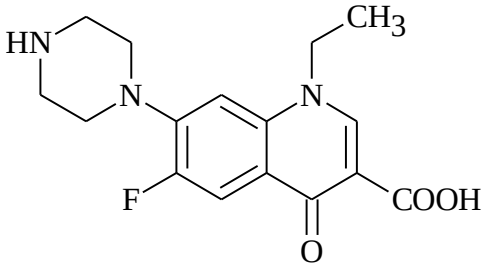
Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz, em temperatura inferior a 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NORFLOXACINO

Norfloxacinum



$C_{16}H_{18}FN_3O_3$; 319,34
norfloxacino; 06497
Ácido 1-etil-6-fluor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinicocarboxílico
[*70458-96-7*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a amarelo-pálido. Sensível à luz e umidade.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em ácido acético, pouco solúvel em álcool etílico e muito pouco solúvel em álcool metílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de norfloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximo em 273 nm. A absorvância difere, no máximo, 3,0%, da de solução similar de norfloxacino SQR, preparada no mesmo solvente. Utilizar vidraria âmbar.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel previamente lavada com álcool metílico e seca ao ar, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico, tolueno, dietilamina e água (40:40:20:14:8), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 8,0 mg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:1).

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 4,0 mg de norfloxacino SQR e dissolver com 1 mL de ácido acético glacial, adicionar 4 mL de álcool metílico e misturar. Diluir 1 mL dessa solução em 19 mL de mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 e 365 nm). A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (2)* é equivalente a 0,5% de impureza. Comparar as intensidades de quaisquer manchas secundárias obtidas no cromatograma da *Solução (1)* com a mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (2)*. A soma das intensidades de todas as manchas secundárias obtidas no cromatograma da *Solução (1)* é, no máximo, igual àquela principal obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,0015% (15 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar à 105 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 240 mg da amostra e dissolver em 80 mL de ácido acético glacial. Titular imediatamente com ácido perclórico 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL do ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 31,934 mg de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente bem fechado e protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

OCTACLOROIDRATO DE ALUMÍNIO E ZIRCÔNIO

$Al_8ZrCl_8(OH)_{20}$; 930,84
octacloroidrato de alumínio e zircônio; 09831
Hidróxido cloreto de zircônio e alumínio
[*98106-55-9*]

O octacloroidrato de alumínio e zircônio é um complexo polimérico hidratado de cloreto básico de alumínio e zircônio. Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% de octacloroidrato de alumínio e zircônio em relação à substância anidra.

IDENTIFICAÇÃO

A solução aquosa da amostra a 10% (p/v), satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 15% (p/v).

Conteúdo de alumínio. Pesar 0,15 g da amostra, transferir para béquer de 150 mL, adicionar 5 mL de água e 15 mL de ácido clorídrico. Manter em ebulição durante cinco minutos. Em seguida, adicionar 40 mL de água e 30 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV. Novamente, ebulir durante cinco minutos. Deixar arrefecer, adicionar 15 mL do tampão ácido acético-acetato de amônio e ajustar com solução concentrada de amônia até pH 4,5. Acrescentar 20 mL de álcool etílico e ajustar o pH a 4,6 com solução concentrada de amônia. Adicionar 10 gotas de ditizona a 0,025% (p/v) em álcool etílico. Titular com sulfato de zinco 0,1 *M* SV até surgimento de coloração rosa-púrpura. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Calcular a porcentagem de alumínio pela fórmula:

$$\frac{2{,}698[15\ M_e - (zM_z + Z_e)]}{W}$$

em que

M_e = molaridade do edetato dissódico 0,05 *M* SV;
z = volume de sulfato de zinco 0,1 *M* SV gasto;
M_z = molaridade do sulfato de zinco 0,1 *M* SV;
W = quantidade em gramas da amostra e
Z_e= volume equivalente de edetato de dissódico 0,05 *M* SV consumido pela quantidade de zircônio, calculado de acordo com a fórmula:

$$\left(\frac{Zr}{M_e}\right) \times \left(\frac{W}{92{,}97}\right)$$

em que

Zr = porcentagem de zircônio determinada no teste *Conteúdo de zircônio* e
92,97 = massa atômica do zircônio corrigida para o conteúdo de 2% de háfnio.

Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/zircônio e a razão atômica de (alumínio + zircônio)/cloreto.

Conteúdo de zircônio. Pesar 250 mg da amostra, transferir para béquer de 150 mL, adicionar 5 mL de água e 15 mL de ácido clorídrico. Manter em ebulição durante seis a oito minutos. Em seguida, adicionar de 30 mL a 40 mL de água e 5 mL de ácido clorídrico e aquecer até ebulição. Adicionar uma gota de solução de alaranjado de xilenol de 0,1% (p/v) e titular a solução, ainda quente, com edetato dissódico 0,05 *M* SV até a mudança da coloração rósea para amarela. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de edetato de dissódico 0,05 *M* SV equivale a 46,485 mg de zircônio. No mínimo, 12,8% e, no máximo, 15,4% de zircônio. Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/zircônio e a razão atômica de (alumínio + zircônio)/cloreto.

Razão atômica alumínio/zircônio. Dividir o porcentual de alumínio encontrado no teste para *Conteúdo de alumínio* pelo porcentual de zircônio encontrado no teste para *Conteúdo de zircônio* e multiplicar por 92,97/26,98, em que 92,97 é a massa atômica do zircônio corrigida para 2% de háfnio e 26,98 é a massa atômica do alumínio. No mínimo, 6,0 e, no máximo, 10,0.

Conteúdo de cloreto. Pesar 250 mg da amostra, transferir para béquer de 250 mL, adicionar 120 mL de água e 20 mL de ácido nítrico *M*. Agitar até a solubilização e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 3,545 mg de cloreto. No mínimo, 16,5% e, no máximo, 19,0% de cloreto.Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/zircônio e a razão atômica de (alumínio + zircônio)/cloreto.

Razão atômica (alumínio + zircônio)/cloreto. Calcular a razão atômica (alumínio + zircônio)/cloreto de acordo com a fórmula:

$$\frac{{}^{\mathrm{Al}}/_{26,98} + {}^{\mathrm{Zr}}/_{92,97}}{{}^{\mathrm{Cl}}/_{35,45}}$$

em que

Al, *Zr* e *Cl* = porcentagens de alumínio, zircônio e cloreto, determinados nos testes para *Conteúdo de alumínio*, *Conteúdo de zircônio* e *Conteúdo de cloreto*, respectivamente;
26,98 = massa atômica do alumínio;
92,97 = massa atômica de zircônio corrigida para 2% de háfnio e
35,45 = massa atômica do cloro.

A razão está entre 0,9 e 1,5.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 1,5 g de amostra. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para arsênio.* No máximo, 0,0002% (2 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar *Método I*. Pesar 0,667 g da amostra e acrescentar 40 mL de água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro*. No máximo, 0,015% (150 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. Pesar 1 g da amostra e adicionar 40 mL de água. Se a preparação não se apresentar límpida, aquecer a 80 °C por alguns minutos, em seguida, deixar arrefecer. Caso a preparação ainda permaneça turva, repetir o processo adicionando 3 mL de ácido clorídrico. Ajustar o pH entre 3 e 4 com hidróxido de amônio 6 *M*. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados* usando 2 mL da solução padrão de chumbo de 10 ppm. No máximo, 0,002% (20 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Calcular a porcentagem do octacloroidrato de alumínio e zircônio, de acordo com a fórmula:

$$\mathrm{Al} \times \left\{ \frac{26{,}98y + 92{,}97 + 17{,}01\left[3y + 4 - \left(\frac{y+1}{z}\right)\right] + 35{,}45\left(\frac{y+1}{z}\right)}{26{,}98y} \right\}$$

em que

Al = percentual de alumínio encontrado no teste para *Conteúdo de alumínio*;
y = razão atômica alumínio/zircônio encontrada no teste para *Razão atômica alumínio/zircônio*;
z = razão atômica (alumínio + zircônio)/cloreto encontrada no teste para *Razão atômica (alumínio + zircônio)/cloreto*;
26,98 = massa atômica do alumínio;
92,97 = massa atômica de zircônio corrigida para 2% de háfnio;
17,01 = massa molecular do ânion hidróxido (OH) e
35,45 = massa atômica do cloro (Cl).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antitranspirante.

OCTACLOROIDRATO DE ALUMÍNIO E ZIRCÔNIO SOLUÇÃO

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de octacloroidrato de alumínio anidro. Octacloroidrato de alumínio e zircônio é um complexo polimérico básico de cloreto de alumínio. Possui razão atômica de alumínio/zircônio entre 6,0 e 10,0, e de (alumínio+zircônio)/cloreto entre 0,9 e 1,5. Os seguintes solventes podem ser utilizados: água, propilenoglicol ou dipropilenoglicol.

IDENTIFICAÇÃO

A. Quando a solução for preparada em propilenoglicol, adicionar cerca de 10 mL de álcool isopropílico a 2 g da solução. Misturar e filtrar. Evaporar o filtrado em banho-maria até reduzir o volume a 1 mL. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** de um filme dessa solução, dispersa em cloreto de prata, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda daqueles observados no espectro de um filme de propilenoglicol, preparado de maneira idêntica. Quando a solução for preparada em dipropilenoglicol, adicionar cerca de 10 mL de álcool isopropílico a 2 g da solução. Misturar e filtrar. Evaporar o filtrado em banho-maria até reduzir o volume a 1 mL. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** de um filme desta solução, dispersa em cloreto de prata, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda daqueles observados no espectro de um filme de dipropilenoglicol, preparado de maneira idêntica.

B. A solução contendo o equivalente a cerca de 100 mg de octacloroidrato de alumínio e zircônio por mL satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 3,0 a 5,0. Determinar em uma solução preparada pela diluição de 3 g da solução com água até completar o volume para 10 mL.

ENSAIOS DE PUREZA

Conteúdo de alumínio. Pesar 0,15 g da amostra, transferir para béquer de 150 mL, adicionar 5 mL de água e 15 mL de ácido clorídrico. Manter em ebulição durante cinco minutos. Em seguida, adicionar 40 mL de água e 30 mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV. Novamente, manter em ebulição durante cinco minutos. Arrefecer, adicionar 15 mL de tampão ácido acético-acetato de amônio e ajustar com solução concentrada de amônia até pH 4,5. Acrescentar 20 mL de álcool etílico e ajustar o pH a 4,6 com solução concentrada de amônia. Adicionar 10 gotas de ditizona a 0,025% (p/v) em álcool etílico. Titular com sulfato de zinco 0,1 *M* SV até surgimento de coloração rosa-púrpura. Realizar ensaio em branco. Calcular a porcentagem de alumínio pela fórmula:

$$\frac{2{,}698[15\ \mathrm{M_e} - (\mathrm{zM_z} + \mathrm{Z_e})]}{\mathrm{W}}$$

em que

M_e = molaridade do edetato dissódico 0,05 *M* SV;
z = volume consumido de sulfato de zinco 0,1 *M* SV, em mL;
M_z = molaridade do sulfato de zinco 0,1 *M* SV;
W = quantidade em gramas da amostra e

Z_e = volume equivalente de edetato dissódico 0,05 *M* SV consumido pela quantidade de zircônio, calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\left(\frac{Zr}{M_e}\right) \times \left(\frac{W}{92,97}\right)$$

em que

Zr = porcentagem de zircônio determinada no ensaio *Conteúdo de zircônio*;
92,97 = massa atômica do zircônio, corrigida para o conteúdo de 2% de háfnio.

Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/zircônio e a razão atômica de (alumínio+zircônio)/cloreto.

Conteúdo de zircônio. Pesar 500 mg da amostra, transferir para béquer de 150 mL, adicionar 5 mL de água e 15 mL de ácido clorídrico. Manter em ebulição durante seis a oito minutos. Em seguida, adicionar de 30 mL a 40 mL de água e 5 mL de ácido clorídrico e aquecer até ebulição. Adicionar uma gota de alaranjado de xilenol SI e titular a solução, ainda quente, com edetato dissódico 0,05 *M* SV até a mudança de coloração rósea para amarela. Realizar ensaio em branco. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 46,485 mg de zircônio. No mínimo, 12,8% e, no máximo, 15,4% de zircônio. Usar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/zircônio e a razão atômica de (alumínio+zircônio)/cloreto.

Razão atômica alumínio/zircônio. Dividir o percentual de alumínio encontrado no ensaio *Conteúdo de alumínio* pelo percentual de zircônio encontrado no ensaio *Conteúdo de zircônio* e multiplicar por 92,97/26,98, em que 92,97 é a massa atômica do zircônio corrigida para 2% de háfnio e 26,98 é a massa atômica do alumínio. No mínimo, 6,0 e, no máximo, 10,0.

Conteúdo de cloreto. Pesar 500 mg da amostra, transferir para béquer de 250 mL, adicionar 120 mL de água e 20 mL de ácido nítrico *M*. Agitar até a solubilização e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 3,545 mg de cloreto. No mínimo, 16,5% e, no máximo, 19,0% de cloreto. Utilizar o resultado obtido para calcular a razão atômica de alumínio/zircônio e a razão atômica de (alumínio+zircônio)/cloreto.

Razão atômica (alumínio+zircônio)/cloreto. Calcular a razão atômica (alumínio+zircônio)/cloreto de acordo com a seguinte fórmula:

$$\frac{{}^{\mathrm{Al}}/_{26,98} + {}^{\mathrm{Zr}}/_{92,97}}{{}^{\mathrm{Cl}}/_{35,45}}$$

em que

Al, *Zr* e *Cl* = porcentagens de alumínio, zircônio e cloreto, determinados nos ensaios *Conteúdo de alumínio*, *Conteúdo de zircônio* e *Conteúdo de cloreto*, respectivamente;
26,98 = massa atômica do alumínio;
92,97 = massa atômica de zircônio corrigida para 2% de háfnio e
35,45 = massa atômica do cloro.

A razão está entre 0,9 e 1,5.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Determinar em 1,5 g de amostra. No máximo, 0,0002% (2 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método III*. Transferir 5,3 g de solução de octacloroidrato de alumínio e zircônio para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 5 mL da solução amostra e 2 mL da solução padrão para béqueres distintos e, a cada béquer, adicionar 5 mL de ácido nítrico 6 *M*. Cobrir com vidro de relógio e ferver as soluções por três a cinco minutos. Arrefecer. No máximo, 0,0075% (75 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Pesar 2 g de solução de octacloroidrato de alumínio e zircônio e adicionar 40 mL de água. Se a preparação não se apresentar límpida, aquecer a 80 °C por alguns minutos e, em seguida, deixar arrefecer. Caso a preparação ainda permaneça turva, repetir o processo adicionando 3 mL de ácido clorídrico. Ajustar o pH entre 3 e 4 com hidróxido de amônio 6 *M*. Utilizar 2 mL da *Solução padrão de chumbo (10 ppm*). No máximo, 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Calcular a porcentagem de octacloroidrato de alumínio e zircônio na solução, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\mathrm{Al} \times \left\{ \frac{26{,}98y + 92{,}97 + 17{,}01\left[3y + 4 - \left(\frac{y+1}{z}\right)\right] + 35{,}45\left(\frac{y+1}{z}\right)}{26{,}98y} \right\}$$

em que

Al = percentual de alumínio encontrado no ensaio *Conteúdo de alumínio*;
y = razão atômica alumínio/zircônio encontrada no ensaio *Razão atômica alumínio/zircônio*;
z = razão atômica (alumínio+zircônio)/cloreto encontrada no ensaio *Razão atômica (alumínio+zircônio)/cloreto*;
26,98 = massa atômica do alumínio;
92,97 = massa atômica de zircônio corrigida para 2% de háfnio;
17,01 = massa molecular do ânion hidróxido (OH) e
35,45 = massa atômica do cloro (Cl).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

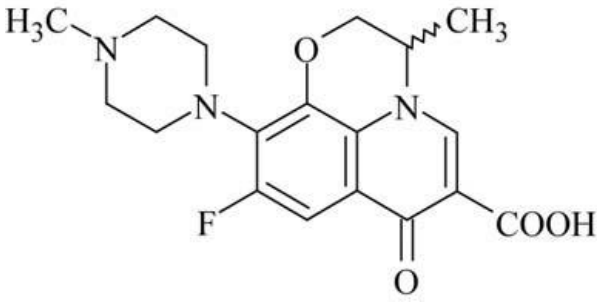
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

OFLOXACINO

Ofloxacinum



$C_{18}H_{20}FN_3O_4$; 361,37
ofloxacino; 06574
Ácido 9-flúor-2,3-di-hidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7*H*-pirido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazina- 6-carboxílico
[*83380-47-6*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Cristais em forma de agulhas incolores. Temperatura de fusão **(5.2.2)**: 250 ºC, com decomposição.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica **(5.2.8)**: –1,0º a +1,0º, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em clorofórmio.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ofloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,00067% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximos idênticos aos observados no espectro de solução similar de ofloxacino SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método II*. No máximo, 0,0001% (1 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 ºC, por quatro horas. No máximo, 0,2%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Transferir cerca de 0,1 g da amostra previamente dessecada para béquer de 400 mL, adicionar 275 mL de anidrido acético e agitar até dissolver. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Usar o primeiro dos dois pontos de inflexão. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 36,137 mg de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismos: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para a padronização do inóculo e meio número 11, para a camada base e camada de inóculo na placa.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g de amostra, transferir para balão volumétrico de 250 mL com auxílio de 100 mL de *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2*), agitar por 30 minutos e completar o volume com o mesmo diluente. Diluir para obter as concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL e 45 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2*), como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de ofloxacino SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*. Diluir para obter as concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL e 45 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2),* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)** adicionando, aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de ofloxacino por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

OFLOXACINO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Preparar solução contendo o equivalente a 0,00067% (p/v) de ofloxacino em ácido clorídrico 0,1 *M*, agitar mecanicamente por 20 minutos e filtrar. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximos de absorção idênticos aos observados no espectro de solução similar de ofloxacino SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido no método **A.** em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 294 nm, coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Solução tampão: dissolver 2,72 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH em 3,3 ± 0,1 com ácido fosfórico SR.

Eluente A: mistura de *Solução tampão* e acetonitrila (88:12). Desgaseificar e filtrar.

Eluente B: mistura de acetonitrila e *Solução tampão* (60:40). Desgaseificar e filtrar.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 8	100	0	isocrática
8 – 25	100 → 40	0 → 60	gradiente linear
25 – 26	40 → 100	60 → 0	gradiente linear
26 – 40	100	0	isocrática

Solução (1): pesar e triturar quantidade não inferior a 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 mg de ofloxacino para balão volumétrico de 100 mL, adicionar cerca de 70 mL de

álcool metílico e deixar o balão em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com álcool metílico e filtrar em filtro 0,45 µm, descartando os primeiros 5 mL do filtrado.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ofloxacino SQR em álcool metílico e diluir de modo a obter solução a 4 µg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (2)*. O fator de cauda para o pico de ofloxacino é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 5,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza presente na amostra segundo a equação:

$$100\ (1/F)\ (A_i/A_p)\ (C_p/C_a)$$

em que

F = fator de resposta relativo para cada impureza;
A_i = área sob o pico correspondente a qualquer impureza individual obtida na *Solução (1)*;
A_p = área sob o pico correspondente ao ofloxacino obtido na *Solução (2)*;
C_p = concentração, em mg/mL, de ofloxacino na *Solução (2)*;
C_a = concentração, em mg/mL, de ofloxacino na *Solução (1)*, baseado no valor declarado.

Os limites das impurezas são apresentados a seguir:

Impureza	***Tempo de retenção relativo***	***Fator de resposta relativo***	***Limite (%)***
Impureza A (ácido 2,3-diidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7H-pirido[1,2,3-de]-1,4-benzoxazina-6-carboxílico)	0,5	1	0,3
Impureza B (ácido 9,10-difluoro-3-metil-7-oxo-2,3-diidro-7H-pirido[1,2,3-de]-1,4-benzoxazina-6-carboxílico)	3,6	0,22	0,3
Outras impurezas individuais	-	1	0,2
Total de impurezas	-	-	1,0

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos a seguir:

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 294 nm, coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Solução tampão: dissolver 2,72 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH em 3,3 ± 0,1 com ácido fosfórico SR.

Fase móvel: mistura de *solução tampão* e acetonitrila (88:12). Desgaseificar e filtrar.

Diluente 1: mistura de álcool metílico e ácido acético glacial (75:25).

Diluente 2: mistura de água e acetonitrila (90:10).

Solução amostra: pesar e triturar quantidade não inferior a 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 mg de ofloxacino para balão volumétrico de 100 mL, adicionar cerca de 70 mL de *Diluente 1* e deixar o balão em banho de banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com o *Diluente 1* e filtrar essa solução em filtro 0,45 µm. Transferir 2 mL da solução filtrada para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o *Diluente 2* e agitar.

Solução padrão: transferir cerca de 25 mg de ofloxacino SQR para balão volumétrico de 25 mL e dissolver em *Diluente 1* (1 mg/mL). Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluente 2* (20 µg/mL).

Injetar replicatas de 20 µL de *Solução padrão*. O fator de cauda para o pico de ofloxacino é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para a padronização do inóculo e meio número 11, para a camada base e camada de inóculo na placa.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 0,25 g de ofloxacino, transferir quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL com auxílio de 100 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 *M*, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*). Agitar por 30 minutos e completar o volume com o mesmo diluente e filtrar. Diluir para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando solução tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*) como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de ofloxacino SQR, transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*) e agitar. Diluir para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando solução tampão fosfato de potássio, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*) como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a quantidade em mg de ofloxacino nos comprimidos a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

OFLOXACINO SOLUÇÃO OFTÁLMICA

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e solução (1 em 30) de hidróxido de amônio (150:75:15), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): diluir quantidade, medida com exatidão, da solução oftálmica em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1), de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade de ofloxacino SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1), de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **A.** em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,0 a 6,8.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir:

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 294 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à 35 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de laurilsulfato de sódio a 0,24% (p/v), acetonitrila e ácido acético glacial (580:400:20). Desgaseificar e filtrar.

Solução amostra: transferir quantidade da solução oftálmica equivalente a 3 mg de ofloxacino para balão volumétrico de 50 mL, diluir com ácido clorídrico 0,05 *M* e agitar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ofloxacino SQR e diluir com ácido clorídrico 0,05 *M*, de modo a obter solução a 60 µg/mL.

Solução de resolução: preparar solução contendo cerca de 0,1 mg/mL de ofloxacino SQR e cerca de 2,4 mg/mL em acetonitrila.

Injetar replicatas de 20 µL de *Solução de resolução*. A resolução entre propilparabeno e ofloxacino é, no mínimo, 2,0. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda para o pico de ofloxacino é, no máximo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatograma e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ na solução oftálmica, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3.1)**, por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para a padronização do inóculo e meio número 11, para a camada base e camada de inóculo na placa.

Solução amostra: diluir a solução oftálmica até as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando *Solução tampão fosfato de potássio*, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*) como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de ofloxacino SQR, transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Solução tampão fosfato de potássio*, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*) e agitar. Diluir para obter as concentrações de 0,05 µg/mL, 0,10 µg/mL e 0,20 µg/mL, utilizando *Solução tampão fosfato de potássio*, estéril, pH 8,0 (*Solução 2*) como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 0,5% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a quantidade de ofloxacino na solução oftálmica, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÓLEO DE AMENDOIM
Arachidis oleum

óleo de amendoim; 09887
[*8002-03-7*]

Óleo fixo refinado obtido das sementes de uma ou mais variedades cultivadas de *Arachis hypogaea* L. – LEGUMINOSAE.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Óleo quase incolor ou levemente amarelado, viscoso, inodoro ou com leve odor agradável.

Solubilidade. Insolúvel em água, solúvel em óleos minerais, pouco solúvel em álcool etílico, miscível com éter etílico, éter de petróleo, clorofórmio e dissulfeto de carbono.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,912 a 0,920.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,462 a 1,464. Determinar a 40 °C.

Temperatura de solidificação **(5.2.29.3)**: 26 °C a 33 °C. Determinar na mistura seca de ácidos graxos.

IDENTIFICAÇÃO

Saponificar 5 g da amostra com 2,5 mL de hidróxido de sódio 7,5 *M* e 12,5 mL de álcool etílico, por aquecimento, até ebulição. Evaporar o álcool etílico, dissolver o sabão em 50 mL de água quente e adicionar ácido clorídrico até que os ácidos graxos livres se separem como uma camada oleosa. Resfriar a mistura, remover os ácidos graxos separados e dissolvê-los em 75 mL de éter etílico. À solução de éter, adicionar solução aquecida de acetato de chumbo a 10% (p/v) em álcool etílico. Deixar em repouso por 18 horas. Filtrar o líquido sobrenadante e transferir o precipitado para o filtro com auxílio de éter etílico. Colocar o precipitado em mistura de 40 mL de ácido clorídrico 3 *M* e 20 mL de água. Aquecer até que a camada oleosa se torne completamente clara. Resfriar, decantar a solução aquosa e ferver os ácidos graxos com água acidificada com ácido clorídrico, até que o chumbo seja eliminado. [Os ácidos graxos estão livres do chumbo quando 100 mg, dissolvidos em 10 mL de álcool etílico, não escurecem pela adição de duas gotas de sulfato de sódio a 10% (p/v)]. Deixar os ácidos graxos solidificarem e pressioná-los entre papéis de filtro em uma superfície fria, para secarem. Dissolver os ácidos graxos sólidos em 25 mL de álcool etílico a 90% (v/v), aquecer moderadamente, resfriar a 15 °C e manter nesta temperatura até que os ácidos graxos se cristalizem. Filtrar os ácidos graxos obtidos. Recristalizá-los com álcool etílico a 90% (v/v) a quente e secar em dessecador, sob pressão reduzida, por quatro horas. O ácido aracdônico, assim obtido, se funde **(5.2.2)** à temperatura entre 73 °C e 76 °C.

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 2 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* SV são necessários para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 10 g da amostra.

Índice de iodo (5.2.29.10). 84 a 100.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 185 a 195.

Matéria insaponificável (5.2.29.14). No máximo, 1,5%.

Óleo de algodão. Em tubo de ensaio, agitar 5 mL da amostra com 5 mL de mistura de álcool *n*-amílico e enxofre a 1% (p/v) em dissulfeto de carbono (1:1). Aquecer, cuidadosamente, até evaporação do dissulfeto de carbono. Submergir o tubo até um terço de sua profundidade em solução saturada de cloreto de sódio fervente. Não se desenvolve coloração avermelhada por 15 minutos.

Óleo de gergelim. Agitar a amostra com igual volume de uma mistura de álcool etílico a 90% (v/v) e hidróxido de amônio (9:1). Aquecer em banho-maria até eliminação do álcool etílico e da amônia. Misturar 2 mL do resíduo com 1 mL de sacarose a 1% (p/v) em ácido clorídrico e deixar em repouso por cinco minutos. A camada ácida não deve se colorir de rosa ou, se a cor rosa aparecer, deve ser, no máximo, igual à obtida pela repetição do ensaio com sacarose.

Outros óleos vegetais. Num frasco com condensador de refluxo, saponificar 1 mL da amostra com 5 mL de hidróxido de potássio etanólico 2 *M*, por cinco minutos. Adicionar 1,5 mL de ácido acético glacial e 50 mL de álcool etílico a 70% (v/v). Aquecer até que a solução se torne límpida. Resfriar lentamente e medir a temperatura do líquido. Ocorre turvação em temperatura não inferior a 39 °C.

Ranço. Misturar 1 mL da amostra a 10% (v/v) em éter etílico com 1 mL de ácido clorídrico e adicionar 1 mL de floroglucinol a 0,1% (p/v) em éter etílico. Nenhuma cor vermelha ou rosa se desenvolve.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes herméticos, resistentes à luz, evitar exposição ao calor excessivo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico.

ÓLEO DE GERGELIM
Sesami oleum

óleo de gergelim; 09888
Óleos glicerídicos e graxos de sésamo
[*8008-74-0*]

É o óleo fixo refinado obtido da semente de uma ou mais variedades cultivadas de *Sesamum indicum* L. – PEDALIACEAE.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Óleo amarelo-pálido, quase inodoro, de sabor suave. Composto, principalmente, pelos ácidos linoleico e oleico.

Solubilidade. Insolúvel em água, solúvel em clorofórmio, em éter etílico e em éter de petróleo, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,916 a 0,921.

Temperatura de solidificação **(5.2.29.3)**: 20 °C e 25 °C. Utilizar a mistura seca de ácidos graxos.

IDENTIFICAÇÃO

Agitar 1 mL da amostra e 10 mL de sacarose a 1% (p/v) em ácido clorídrico por 30 segundos. A camada ácida torna-se rosa e passa a vermelha em repouso (distinção da maioria dos outros óleos fixos).

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 2 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* SV são necessários para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 10 g da amostra.

Índice de iodo (5.2.29.10). 103 a 116.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 188 a 195.

Matéria insaponificável (5.2.29.14). No máximo, 1,5%.

Composição de triglicerídeos. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de índice de refração; duas colunas em série de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotadas com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantidas a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e cloreto de metileno (60:40).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 0,2 g da amostra, para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Os ácidos graxos presentes na amostra são: ácido

linoleico (L), ácido oleico (O), ácido palmítico (P) e ácido esteárico (E). Os triglicerídeos presentes na amostra são: trilinoleína (LLL), 1,2-dilinoleoíla-3-oleíla-rac-glicerol (OLL), 1,2-dilinoleoíla-3-palmitoílarac-glicerol (PLL), 1,2-dioleoíla-3-linoleoíla-rac-glicerol (OOL), 1-palmitoíla-2-oleíla-3-linoleoíla-rac-glicerol (POL), trioleína (OOO), 1-linoleoíla-2-oleoíla-3-estearoíla-rac-glicerol (EOL) e 1,2-dioleoíla-3-palmitoílarac- glicerol (POO).

Solução de resolução: transferir 30 mg de OLL e 30 mg de PLL, pesados com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,93 para OLL e 1,0 para PLL. A resolução entre os picos de PLL e OLL é, no mínimo, 1,8. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos de triglicerídeos. Calcular a porcentagem de cada triglicerídeo na amostra de óleo de gergelim, em relação à soma dos picos observados. Não considerar os picos relativos aos solventes. A tabela a seguir indica os tempos de retenção relativos e a composição percentual dos triglicerídeos.

Triglicerídeo	***Tempo de retenção relativo***	***Composição (%)***
LLL	0,55	7,0 a 19,0
OLL	0,65	13,0 a 30,0
PLL	0,69	5,0 a 9,0
OOL	0,77	14,0 a 25,0
POL	0,82	8,0 a 16,0
OOO	0,93	5,0 a 14,0
EOL	0,97	2,0 a 8,0
POO	1,0	2,0 a 8,0

Óleo de algodão. Em tubo de ensaio, agitar 5 mL da amostra e 5 mL de mistura de álcool *n*-amílico e enxofre a 1% (p/v) em dissulfeto de carbono (1:1). Aquecer, cuidadosamente, até evaporação do dissulfeto de carbono. Submergir o tubo até um terço de sua profundidade em solução saturada de cloreto de sódio em ebulição. Não se desenvolve coloração avermelhada por 15 minutos.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes herméticos, resistentes à luz, evitando exposição ao calor excessivo.

ROTULAGEM

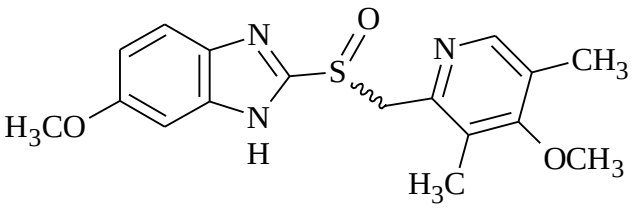
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Excipiente farmacotécnico.

OMEPRAZOL

Omeprazolum



$C_{17}H_{19}N_3O_3S$; 345,42
omeprazol; 06602
6-Metoxi-2-[[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil)metil]sulfinil]-1*H*-benzimidazol
[*73590-58-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico e em álcool metílico. Solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de omeprazol SQR. Se houver diferenças entre os espectros, dissolver amostra e omeprazol SQR, separadamente, em álcool metílico e evaporar até secura. Obter novos espectros com os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, de solução a 0,002% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximos de absorção em 276 nm e 305 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 305 nm e 276 nm está compreendida entre 1,6 e 1,8.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2),* obtida em *Substâncias relacionadas 1*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 2% (p/v) em cloreto de metileno é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Absorção de luz. A absorvância da solução a 2% (p/v) em cloreto de metileno, medida em 440 nm, é, no máximo, 0,10.

Substâncias relacionadas 1. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando-se sílica-gel F_{254}, como suporte, e mistura de álcool isopropílico, cloreto de

metileno e cloreto de metileno saturado com amônia (1:2:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver 100 mg da amostra em 2 mL da mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:1).

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com álcool metílico.

Solução (3): dissolver 10 mg de omeprazol SQR em 2 mL de álcool metílico.

Solução (4): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com a mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:1). Diluir 1 mL da solução resultante para 100 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1),* diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (4)* (0,1%).

Substâncias relacionadas 2. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir:

Solução (1): dissolver 16 mg da amostra na *Fase móvel* e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. Diluir 1 mL da solução resultante para 10 mL com *Fase móvel.*

Procedimento: injetar 40 µL da *Solução (1)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. Medir as áreas sob todos os picos obtidos. A área sob qualquer pico secundário, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 0,3% da área total sob os picos obtidos com a *Solução (1).* A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 1,0% da área total sob os picos obtidos com a *Solução (1).* Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, utilizando hélio, como gás de arraste; coluna capilar de sílica fundida, de 30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com policianopropilfenildimetilsiloxano, com espessura do filme de 1,8 µm; temperatura da coluna a 40 ºC por 20 minutos, rapidamente elevada a 240 ºC e mantida por 20 minutos; temperatura do injetor a 140 ºC e temperatura do detector a 260 ºC.

Solução amostra: transferir 100 mg da amostra para um frasco de 10 mL, adicionar 5 mL de dimetilacetamida e 1 g de sulfato de sódioanidro, tampar e aquecer a 80 ºC por uma hora.

Solução padrão: preparar a solução, em dimetilacetamida, contendo 12,0 µg/mL de cloreto de metileno, 1,2 µg/mL de clorofórmio, 7,6 µg/mL de dioxano e 1,6 µg/mL de tricloroetileno. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 1 g de sulfato de sódio anidro, tampar e aquecer a 80 ºC por uma hora.

Injetar replicatas da *Solução padrão* por meio de "headspace" apropriado. A resolução entre quaisquer dos componentes é, no mínimo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 15,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, por meio de "headspace" apropriado, a *Solução padrão* e a *Solução amostra.* Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. As áreas sob os picos relativos ao cloreto de metileno, clorofórmio, dioxano e tricloroetileno obtidos para a *Solução*

amostra não devem ser superiores às áreas sob os picos relativos ao cloreto de metileno, clorofórmio, dioxano e tricloroetileno obtidos para a *Solução padrão*, correspondendo a, no máximo, 600 ppm, 60 ppm, 380 ppm e 80 ppm, respectivamente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,5%.

Perda por dessecação (5.2.9.1)(5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa, a 60 ºC, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 1,1 g da amostra e dissolver em 50 mL da mistura de água e álcool etílico (1:4). Titular com hidróxido de sódio 0,5 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de sódio 0,5 *M* SV equivale a 172,710 mg de $C_{17}H_{19}N_3O_3S$.

B. 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 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 7,6: dissolver 0,725 g de fosfato de sódio monobásico e 4,472 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 300 mL de água, diluir para 1000 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 250 mL da solução resultante para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar cerca de 980 mL de água, ajustar o pH para 7,6 com ácido fosfórico e completar o volume com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 7,6* e acetonitrila (3:1).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em mistura de borato de sódio 0,01 *M* e acetonitrila (3:1) e diluir com o mesmo solvente para obter solução a 200 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de omeprazol SQR em mistura de borato de sódio 0,01 *M* e acetonitrila (3:1) e diluir com o mesmo solvente para obter solução a 200 µg/mL.

Solução padrão diluída: transferir 5 mL da *Solução padrão* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com a mesma mistura de borato de sódio 0,01 *M* e acetonitrila (3:1), obtendo solução a 100 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão diluída*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 3000 pratos teóricos. O fator de capacidade é, no mínimo, 6,0. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz e da umidade, entre 2 ºC e 8 ºC.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antissecretor.

ÓXIDO DE MAGNÉSIO
Magnesii oxidum

MgO; 40,30
óxido de magnésio; 06728
Óxido de magnésio
[*1309-48-4*]

Contém, no mínimo, 96,0% e, no máximo, 100,5% de MgO, em relação à substância incinerada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amorfo, fino e branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em ácidos diluídos, produzindo ligeira efervescência.

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver cerca de 15 mg da amostra em 2 mL de ácido nítrico a 20% (p/v) e neutralizar com hidróxido de sódio a 8,5% (p/v). A solução satisfaz à reação do íon magnésio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em mistura de 70 mL de ácido acético SR e 30 mL de água. Aquecer à ebulição durante dois minutos, resfriar e completar o volume para 100 mL com ácido acético 0,045 *M*. Filtrar, se necessário, em filtro de porcelana ou sílica, previamente calcinado e tarado, cuja porosidade possibilite obter um filtrado límpido. Guardar o resíduo eventualmente presente. A solução de referência é uma mistura (1:1) da solução descrita a seguir e ácido clorídrico a 1% (p/v): misturar 3 mL da *Solução base de cloreto de cobalto II*, 3 mL da *Solução base de cloreto férrico*, 2,4 mL da *Solução base de sulfato cúprico*, preparadas conforme descrito em *Cor de líquidos* **(5.2.12)**, e 1,6 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v). 10 mL da solução da amostra não é mais corada que 10 mL da solução de referência.

Limite de substâncias insolúveis no ácido acético. Lavar, secar e calcinar a 600 °C o resíduo eventualmente recolhido no decorrer da preparação da solução da amostra em *Aspecto da preparação*. A massa do resíduo é, no máximo, 5 mg, o que representa, no máximo, 0,1%.

Limite de substâncias solúveis e álcalis livres. A 2 g da amostra adicionar 100 mL de água e aquecer à ebulição durante cinco minutos. Filtrar a quente por um filtro de vidro poroso. A 50 mL do filtrado, adicionar duas gotas de vermelho de metila SI e titular com ácido sulfúrico 0,05 *M* SV. No máximo, 2 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* SV são consumidos. Evaporar à secura 25 mL do filtrado e secar entre 100 °C e 105 °C. A massa do resíduo não é superior a 10 mg. No máximo, 2,0%.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 15 mL da solução amostra obtida em *Aspecto da preparação*. Proceder conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,0004% (4 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Diluir 1,3 mL da solução amostra obtida em *Aspecto da preparação* para 150 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cálcio* utilizando 15 mL dessa solução. No máximo, 1,5%.

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 40 mg da amostra em 5 mL de ácido nítrico 2 *M*, aquecer à ebulição por um minuto e diluir para 50 mL com água. Diluir 25 mL da solução obtida para 45 mL com água, adicionar 2 mL de ácido clorídrico e prosseguir conforme descrito em *Método I*. Utilizar 1 mL de *Solução padrão de ferro (10 ppm Fe).* No máximo, 0,05% (500 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em 35 mL de ácido clorídrico 3 *M* e evaporar em banho-maria até secura. Próximo ao final da evaporação, agitar frequentemente para desintegrar o resíduo, de modo a obter um pó seco. Dissolver o resíduo em 20 mL de água e evaporar até secura. Dissolver novamente o resíduo em 20 mL de água, filtrar, se necessário, e diluir com água para 40 mL. Diluir 20 mL da solução obtida para 25 mL com água e prosseguir conforme descrito em *Método I.* No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Pesar 2 g da amostra e adicionar 30 mL de ácido clorídrico SR. Filtrar, se necessário, adicionar 1 mL de cloreto de bário SR, completar o volume para 50 mL com água e aquecer em banho-maria durante 10 minutos. Qualquer opalescência obtida não é mais intensa que aquela apresentada por 0,2 mg de íon sulfato, em igual volume de líquido, contendo as mesmas quantidades dos reagentes. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar em mufla a 900 °C ± 25 °C, até peso constante. No máximo, 10,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações complexométricas para magnésio* **(5.3.3.4)**. Incinerar a amostra a 800 °C por uma hora. Pesar, com exatidão, cerca de 0,32 g do resíduo, dissolver em 7 mL de ácido clorídrico 3 *M* e diluir para 100 mL com água. Titular 20 mL da solução obtida utilizando edetato dissódico 0,1 *M* SV. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 4,030 mg de MgO.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Deve informar se é o óxido de magnésio leve ou pesado.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico, antiácido, laxante hiperosmótico salino.

ÓXIDO DE ZINCO
Zinci oxidum

ZnO; 81,38
óxido de zinco; 06730
Óxido de zinco
[*1314-13-2*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de ZnO, em relação à substância incinerada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, amorfo, branco ou levemente amarelado.

Solubilidade. Insolúvel em água e em álcool etílico (a 96%). Solúvel em ácidos minerais diluídos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adquire coloração amarela quando submetido a forte aquecimento, que desaparece após o resfriamento.

B. Dissolver 0,1 g da amostra em 1,5 mL de ácido clorídrico SR e diluir para 5 mL com água. A solução satisfaz às reações do íon zinco **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 15 mL de ácido clorídrico SR. Não se observa efervescência durante a dissolução. A preparação obtida é incolor **(5.2.12)** e não é mais opalescente que a *Suspensão de referência II* **(5.2.25)**.

Alcalinidade. Agitar 1 g da amostra com 10 mL de água fervente. Adicionar duas gotas de fenolftaleína SI e filtrar. Se o filtrado for vermelho, é necessário, no máximo, 0,3 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* para promover a viragem do indicador.

Limite de cádmio. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Preparar as *Soluções padrão* e *amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: dissolver 2 g da amostra em 14 mL de mistura de água e ácido nítrico isento de cádmio e chumbo (1:1). Ferver por um minuto, resfriar e diluir para 100 mL com água.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão utilizando solução padrão de cádmio (0,1% Cd) e diluindo com ácido nítrico a 3,5% (v/v) isento de cádmio e chumbo.

Procedimento: Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 228,8 nm, utilizando lâmpada de catodo oco de cádmio, como fonte de radiação e chama de acetileno. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Chumbo. Dissolver 2 g da amostra em 20 mL de água e adicionar 5 mL de ácido acético glacial em banho-maria até total dissolução. Adicionar cinco gotas de cromato de potássio SR. A solução obtida não produz nenhuma turvação ou precipitado.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 0,6 g da amostra. Proceder conforme descrito em *Método espectrofotométrico, Método I*. No máximo 0,0005% (5 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Dissolver 0,5 g da amostra em 1 mL de ácido clorídrico SR e diluir para 10 mL com água. Prosseguir conforme descrito no *Método I*. Utilizar *Solução padrão de ferro (100 ppm Fe).* No máximo, 0,02% (200 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g de amostra. Incinerar em mufla a 850 °C ± 25 °C, até peso constante. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,8 g da amostra previamente calcinada a 850 °C por uma hora, em 2 mL de água e 3 mL de ácido clorídrico, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Pipetar 10 mL dessa solução, adicionar 80 mL de água e em seguida adicionar uma solução de hidróxido de sódio (1 em 50) até aparecer partículas sólidas em suspensão. Adicionar 5 mL de tampão cloreto de amônia pH 10,7, duas gotas de negro de eriocromo T SI e titular com edetato dissódico 0,05 *M* SV. Cada mL de edetato dissódico 0,05 *M* SV equivale a 4,069 mg de ZnO.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

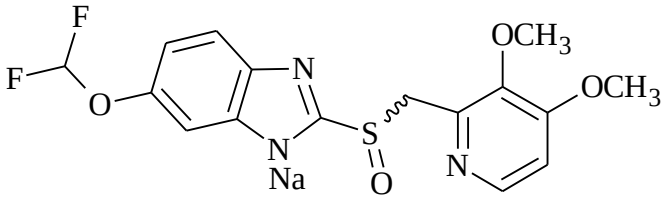
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Protetores dermatológicos.

PANTOPRAZOL SÓDICO

Pantoprazoli natricum



$C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$; 405,35
pantoprazol sódico; 06819
Sal de sódio do 6-(difluormetoxi)-2-[[(3,4-dimetoxi-2-piridinil)metil]sulfinil]-1*H*-benzimidazol (1:1)
[*138786-67-1*]

$C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S.1{,}5H_2O$; 432,37
pantoprazol sódico sesqui-hidratado; 09514
Sal de sódio do 6-(difluormetoxi)-2-[[(3,4-dimetoxi-2-piridinil)metil]sulfinil]-1*H*-benzimidazol hidratado (2:2:3)
[*164579-32-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco, higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool metílico e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 139 ºC a 160 ºC, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: –1,0 a +1,0, em relação à substância anidra. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de pantoprazol sódico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 210 nm a 360 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool metílico, há máximo em 289 nm.

C. Solubilizar 20 mg da amostra em 1 mL de água. A solução satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e levemente amarelada **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 9,0 a 11,5. Determinar em solução aquosa a 2% (p/v).

Absorção de luz. A absorvância máxima da solução aquosa a 2% (p/v), medida a 440 nm, é de 0,025 e a transmitância mínima, medida em 650 nm, é de 97%. A absorvância máxima da solução aquosa a 10% (p/v), medida a 440 nm, é de 0,1 e a transmitância mínima, medida em 650 nm, é de 95%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 1 g de amostra dessecada em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). Entre 4,5% e 8,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 ºC, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,35 g da amostra em 50 mL de álcool etílico. Titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente ou utilizar azul de bromofenol SI como indicador, com viragem para a cor verde. Realizar ensaio em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV equivale a 40,535 mg de $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 290 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (75:25).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em hidróxido de sódio 0,1 *M*, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir em tampão fosfato-laurilsulfato de sódio pH 6,8 até concentração de 0,1 mg/mL. Diluir a solução obtida, em mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de pantoprazol sódico SQR em hidróxido de sódio 0,1 *M*, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir em tampão fosfato-laurilsulfato de sódio pH 6,8 até concentração de 0,1 mg/mL. Diluir a solução obtida em mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 μg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos principais. Calcular o teor de $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e sob refrigeração.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antissecretor

PANTOPRAZOL SÓDICO CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$. As cápsulas devem ser gastrorresistentes.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida em *Doseamento,* corresponde àquele da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir o conteúdo de cada cápsula, quantitativamente, para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 25 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos e sob agitação mecânica por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Diluir em tampão fosfato pH 6,8, de modo a obter solução a 80 µg/mL. Diluir em mistura de acetonitrila e água (50:50), até obter solução a 8,0 µg/mL. Preparar a *Solução padrão* conforme descrito em *Doseamento*, de modo a obter solução a 8,0 µg/mL de pantoprazol. Proceder conforme descrito em *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Estágio ácido:
Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 500 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: decorrido o tempo de 60 minutos, elevar as cestas e retirar, de cada cuba, 25 mL do meio de dissolução. Filtrar e diluir, se necessário, com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração teórica de 8,0 µg/mL, supondo dissolução de 10% de pantoprazol. Preparar *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução padrão: dissolver em água quantidade, pesada com exatidão, de pantoprazol sódico SQR, de modo a obter solução a 80 mg/mL de pantoprazol base. Diluir com tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 0,8 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 8,0 µg/mL.

Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de pantoprazol dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Estágio tampão:
Meio de dissolução: adicionar 425 mL de tampão fosfato pH 11,0 aos 475 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* remanescentes nas cubas. Se necessário, ajustar o pH para 6,80 com ácido fosfórico 20% (v/v) ou hidróxido de sódio 40% (p/v).
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: utilizar as mesmas cápsulas submetidas ao *Estágio ácido*. Decorrido o tempo de 60 minutos, elevar as cestas e retirar alíquota do meio de dissolução. Filtrar, se necessário. Diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 8,8 µg/mL. Preparar a *Solução padrão* descrita a seguir.

Solução padrão: solução de pantoprazol a 8,0 µg/mL.

Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de pantoprazol dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ se dissolvem em 60 minutos no *Estágio tampão*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Pantoprazol sódico*. Preparar a *Solução amostra* e a *Solução padrão* conforme descrito a seguir.

Solução amostra: Pesar, no mínimo, 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir, quantitativamente, quantidade do pó equivalente a 50 mg de pantoprazol base para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar cerca de 25 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, submeter a banho de ultrassom durante cinco minutos e agitação mecânica por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar em papel de filtro adequado. Diluir o filtrado com o tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 0,1 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de pantoprazol sódico SQR e hidróxido de sódio 0,1 *M*, de modo a obter solução a 1,0 mg/mL de pantoprazol base. Diluir com o tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 0,1 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PANTOPRAZOL SÓDICO GRÂNULOS GASTRORRESISTENTES

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: mistura de 475 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* e 425 mL de tampão fosfato pH 11,0, com pH ajustado para 6,8 com ácido fosfórico 20% (v/v) ou hidróxido de sódio 40% (p/v).
Aparelhagem: cestas, 100 rpm. ***Nota:*** *deve-se garantir que as cestas possuam abertura de malha inferior ao tamanho dos grânulos.*
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: realizar o teste com massa de grânulos equivalente a 40 mg de pantoprazol em cada cesta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com mistura de acetonitrila e água (50:50), até concentração próxima de 8,8 µg/mL. Preparar a *Solução padrão* conforme descrito em *Doseamento*, de modo a obter solução a 8,0 µg/mL de pantoprazol base. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo, 6,0%.

GASTRORRESISTÊNCIA

Utilizar aparelho para *Teste de dissolução* **(5.1.5)**.

Meio: ácido clorídrico 0,1 *M*, 500 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm. ***Nota:*** *deve-se garantir que as cestas possuam abertura de malha inferior ao tamanho dos grânulos.*
Tempo: 120 minutos.

Procedimento: realizar teste com massa de grânulos equivalente a 20 mg de pantoprazol em cada cesta. Decorrido o tempo de duas horas, elevar a plataforma. Remover as cestas, transferir os grânulos de cada cesta para balões volumétricos de 25 mL, quantitativamente, por solubilização com 13 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Submeter a banho de ultrassom durante cinco minutos e agitação mecânica por 15 minutos. Completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Filtrar em papel de filtro adequado. Diluir o filtrado em tampão fosfato pH 6,8 até concentração de 80 µg/mL. Diluir a solução obtida em mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 8,0 µg/mL. Preparar a *Solução padrão* conforme descrito em *Doseamento*, de modo a obter solução a 8,0 µg/mL de pantoprazol base. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ dissolvida em hidróxido de sódio 0,1 *M* a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução* amostra.

Tolerância: após resistirem por duas horas em ácido clorídrico 0,1 *M*, os valores individuais das quantidades dissolvidas em hidróxido de sódio 0,1 *M* são, no mínimo, 80% e o valor médio é, no mínimo, 85% da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Pantoprazol sódico*. Preparar a *Solução amostra* e a *Solução padrão* conforme descrito a seguir.

Solução amostra: pulverizar quantidade suficiente da amostra. Transferir, quantitativamente, quantidade do pó equivalente a 25 mg de pantoprazol base para balão volumétrico de 25 mL. Adicionar cerca de 13 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, submeter a banho de ultrassom durante cinco minutos e agitação mecânica por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar em papel de filtro adequado. Diluir o filtrado com o tampão fosfato pH 6,8 até concentração de 0,1 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de pantoprazol sódico SQR e hidróxido de sódio 0,1 *M*, de modo a obter solução a 1,0 mg/mL de pantoprazol base. Diluir com o tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 0,1 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ nos grânulos gastrorresistentes a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

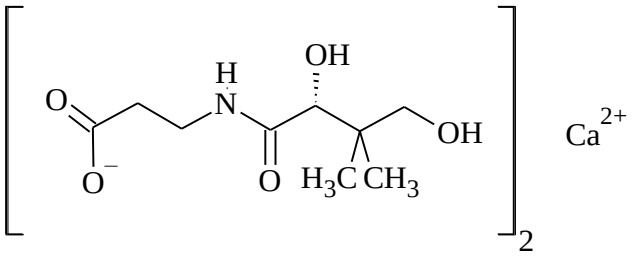
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PANTOTENATO DE CÁLCIO

Calcii pantothenas



$C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$; 476,54
pantotenato de cálcio; 00317
Sal de cálcio da *N*-[(2*R*)-2,4-di-hidroxi-3,3-dimetil-1-oxobutil]-*β*-alanina (1:2)
[*137-08-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, levemente higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em glicerol, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +25,0 a +27,5, em relação à substância dessecada.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em cloreto de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de pantotenato de cálcio SQR, preparado de maneira idêntica.

B.
A mancha principal no cromatograma obtido com a *Solução (2)*, obtida em *Limite de ácido 3-aminopropiônico*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3).*

C. Dissolver 2,5 g da amostra em 50 mL de água. Transferir 1 mL dessa solução para tubo de ensaio e adicionar 1 mL de hidróxido de sódio SR e 0,1 mL de sulfato cúprico SR. Haverá formação de coloração azul.

D. Satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 5% (p/v) em água é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 6,8 a 8,0. Determinar em solução a 5% (p/v).

Limite de ácido 3-aminopropiônico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de água, ácido acético glacial e álcool etílico (20:30:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em água e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* a 10 mL com água.

Solução (3): dissolver 20 mg de pantotenato de cálcio SQR em água e diluir para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver 10 mg de ácido 3-aminopropiônico SQR em água e diluir para 50 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar, nebulizar a placa com ninidrina SR. Aquecer a 110 °C por 10 minutos. A mancha correspondente ao ácido 3-aminopropiônico no cromatograma obtido com a *Solução (1)* não é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (4)*. No máximo, 0,5%.

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)** Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, 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 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fase estacionária ligada a 5% de fenilpolisiloxano e 95% a metilpolisiloxano, com espessura do filme de 5 µm; temperatura da coluna de 35 °C a 260 °C (35 °C mantida durante cinco minutos, aumentada a 175 °C a 8 °C por minuto, aumentada a 260 °C a 35 °C e mantida à esta temperatura por pelo menos 16 minutos), temperatura do injetor a 70 °C e temperatura do detector a 260 °C; utilizar hélio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1,0 mL/minuto.

Solução amostra: dissolver em 50 mL de água, isenta de compostos orgânicos, cerca de 1 g de amostra, pesada com exatidão.

Solução padrão: preparar uma solução em água isenta de compostos orgânicos, contendo, em cada mL, 10 µg de cloreto de metileno, 1 µg de clorofórmio, 2 µg benzeno, 2 µg de dioxano e 2 µg de tricloroetileno.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* no cromatógrafo a gás. Obter os cromatogramas e medir a área sob os picos. Identificar, baseado no tempo de retenção, qualquer pico presente no cromatograma da *Solução amostra*. A presença e a identificação dos picos no cromatograma devem ser estabelecidas comparando os cromatogramas da *Solução amostra* e *Solução padrão*. Limites: benzeno 2 ppm, clorofórmio 50 ppm, dioxano 100 ppm, cloreto de metileno 500 ppm e tricloroetileno 80 ppm..

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,8 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo, 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. Dissolver 1,0 g de amostra em 10 mL de água e utilizar 2 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g de amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por três horas. No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 180 mg da amostra em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 23,827 mg de $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

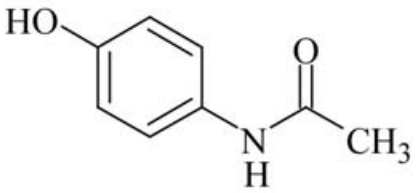
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Suplemento alimentar.

PARACETAMOL

Paracetamolum



$C_8H_9NO_2$; 151,17
paracetamol; 06827
N-(4-Hidroxifenil)acetamida
[*103-90-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_8H_9NO_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em água fervente, facilmente solúvel em álcool etílico. Solúvel em hidróxido de sódio *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 168 °C a 172 °C.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **C**. O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de paracetamol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,0005% (p/v) em mistura de ácido clorídrico 0,1 *M* e álcool metílico (1:100), há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de paracetamol SQR.

C. A 10 mL de uma solução a 1% (p/v) da amostra, adicionar uma gota de cloreto férrico SR. Desenvolve-se coloração azul-violácea.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,3 a 6,5. Determinar na solução saturada.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 245 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura de 35 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de solução de fosfato de sódio dibásico a 1,79% (p/v), solução de fosfato de sódio monobásico a 0,78% (p/v) e álcool metílico contendo 0,46% (p/v) de hidróxido de tetrabutilamônio a 40% (p/v) (375:375:250).

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em 2,5 mL de álcool metílico contendo 4,6 g/L de uma solução de hidróxido de tetrabutilamônio 40% (p/v) e diluir para 10 mL com mistura de fosfato de sódio dibásico 1,79% (p/v) e fosfato de sódio monobásico 0,78% (p/v) (1:1).

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 50 mL com a *Fase móvel*. Diluir 5 mL desta solução para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 10 mL com a *Fase móvel*.

Solução (4): dissolver 5 mg de 4-aminofenol, 5 mg de paracetamol SQR e 5 mg de cloroacetanilida em álcool metílico, e diluir para 20 mL com o mesmo solvente. Diluir 1 mL para 250 mL com *Fase móvel*.

Solução (5): dissolver 20 mg de 4-nitrofenol em álcool metílico e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Diluir 1 mL para 20 mL com *Fase móvel*.

Os tempos de retenção relativos em relação ao paracetamol (tempo de retenção = cerca de quatro minutos) são cerca de 0,8 para o 4-aminofenol, 3,0 para o 4-nitrofenol e 7,0 para a cloroacetanilida. A resolução entre o paracetamol e o 4-aminofenol é, no mínimo, 4,0. A relação sinal-ruído é de, no mínimo, 50 para a cloroacetanilida.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução, recentemente preparadas, e registrar os cromatogramas por, no mínimo, seis vezes o tempo de retenção do pico do paracetamol e medir as áreas sob os picos. A área da cloroacetanilida, obtida com a *Solução (1)*, não é maior que a 0,2 vezes a área sob o pico obtido com a *Solução (4)* (0,001%). A área sob o pico de 4-aminofenol, obtida com a *Solução (1)*, não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (4)* (0,005%). A área sob o pico de 4-nitrofenol, obtida com a *Solução (1)*, não é maior que a metade da área sob o pico obtido com a *Solução (5)* (0,05%). A soma das áreas sob todos os picos, obtidos com a *Solução (1)*, exceto a sob o pico de paracetamol, não é maior que a área sob o pico principal, obtido com a *Solução (2)* (0,1%). Para o cálculo das impurezas totais não considerar picos com área inferior à área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,01%).

Substâncias facilmente carbonizáveis. Dissolver 0,5 g da amostra em 5 mL de ácido sulfúrico. A coloração da solução obtida não é mais intensa que a da *Solução padrão de cor SC A* **(5.2.12)**.

Sulfetos. Pesar cerca de 2,5 g da amostra em béquer de 50 mL. Adicionar 5 mL de álcool etílico e 1 mL de ácido clorídrico *M*. Umedecer, com água, um papel de filtro impregnado com acetato de chumbo e colocar sobre vidro de relógio. Cobrir o béquer com o vidro de relógio de tal forma que uma das pontas do papel fique na abertura do frasco. Aquecer em chapa elétrica até ebulição. Nenhuma mancha ou coloração aparece no papel com acetato de chumbo.

Cloretos (5.3.2.1). Agitar 1 g da amostra com 25 mL de água, filtrar e adicionar 1 mL de ácido nítrico 2 *M*. No máximo, 0,014% (140 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Agitar 1 g da amostra com 25 mL de água, filtrar quantitativamente para tubo de Nessler. No máximo, 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1 g da amostra em mistura de acetona e água (85:15) e diluir para 20 mL com a mesma mistura de solventes. Transferir a solução obtida para tubo de Nessler e proceder conforme descrito no *Método II*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g de amostra, dissolver em 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, adicionar 100 mL de água, agitar mecanicamente por 15 minutos e adicionar água suficiente para 200 mL. Homogeneizar e filtrar. Diluir 10 mL do filtrado para 100 mL com água. Transferir 10 mL da solução resultante para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume com água. Preparar a solução padrão na mesma concentração, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* como solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 257 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_8H_9NO_2$ na amostra a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 715, em 257 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e opacos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico e antipirético.

PARACETAMOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_8H_9NO_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Extrair quantidade do pó equivalente a 0,5 g de paracetamol com 20 mL de acetona. Filtrar, evaporar o filtrado e secar a 105 °C. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles obtidos no espectro de paracetamol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Aquecer até ebulição 0,1 g do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* com 1 mL de ácido clorídrico por três minutos, adicionar 10 mL de água e resfriar. Nenhum precipitado é produzido. Adicionar 0,05 mL de dicromato de potássio 0,0167 *M*. Desenvolve-se coloração violeta, que não muda para vermelha.

C. A temperatura de fusão **(5.2.2)** do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* é de, aproximadamente, 169 °C.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 5,8, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em tampão fosfato pH 5,8 até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 243 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_9NO_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de paracetamol SQR a 0,00075% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_8H_9NO_2$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada*, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte e mistura de clorofórmio, acetona e tolueno (65:25:10) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 200 µL da *Solução (1)* e 40 µL de cada uma das *Soluções (2), (3)* e *(4),* descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 1 g de paracetamol para um tubo de centrífuga de 15 mL com tampa de vidro esmerilhada. Adicionar 5 mL de éter etílico e agitar mecanicamente por 30 minutos. Centrifugar a 1000 rotações por minuto, durante 15 minutos ou até obter sobrenadante límpido. Utilizar o sobrenadante.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com álcool etílico.

Solução (3): preparar solução a 0,005% (p/v) de *p*-cloroacetanilida em álcool etílico.

Solução (4): dissolver 0,25 g de *p*-cloroacetanilida e 0,1 g de paracetamol em álcool etílico e completar o volume para 100 mL.

Desenvolver o cromatograma em cuba não saturada, até a fase móvel atingir 14 cm da origem. Remover a placa, secar com o auxílio de corrente de ar quente e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha correspondente à *p*-cloroacetanilida, obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, não é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (3)* (0,005%). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (2)*, com valor de Rf inferior ao da *p*-cloroacetanilida, não é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma com a *Solução (3)* (0,25%). O teste só é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (4)* mostrar duas manchas principais nitidamente separadas, sendo que a mancha correspondente a *p*-cloroacetanilida tem Rf de maior valor.

Limite de 4-Aminofenol. 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 200 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (10 μm); fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: preparar solução de butanossulfonato de sódio 0,01 *M* utilizando como solvente mistura de água, álcool metílico e ácido fórmico (85:15:0,4).

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 1 g de paracetamol para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 15 mL de álcool metílico e agitar. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): preparar solução a 0,001% (p/v) de 4-aminofenol em álcool metílico 15% (v/v).

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente ao 4-aminofenol obtido no cromatograma com a *Solução (1)* não é maior que a área sob o pico principal obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (0,1%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,15 g de paracetamol para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, 100 mL de água, agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com água. Homogeneizar, filtrar e diluir 10 mL do filtrado para 100 mL com água. Transferir 10 mL da solução resultante para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume com água. Preparar solução padrão na mesma concentração, em hidróxido de sódio 0,01 *M*. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 257 nm **(5.2.14)**, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_9NO_2$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1cm) = 715, em 257 nm, em hidróxido de sódio 0,01 *M*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 243 nm; coluna de 300 mm e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e álcool metílico (75:25).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra na *Fase móvel.* Agitar mecanicamente por 10 minutos e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos. Diluir com o mesmo solvente até a concentração de 10 µg/mL de paracetamol.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de paracetamol SQR na *Fase móvel* de modo a obter solução a 10 µg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 1000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de $C_8H_9NO_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PARACETAMOL SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da quantidade declarada de $C_8H_9NO_2$.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C**. O teste de identificação **C.** pode ser omitido se forem realizados os testes **A.** e **B**.*

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 249 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno e álcool metílico (4:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): diluir a solução oral em álcool metílico até concentração de 1 mg/mL.

Solução (2): dissolver 10 mg de paracetamol SQR em álcool metílico e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

Teste de gotejamento (5.1.8). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,8 a 6,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de 4-Aminofenol. 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 200 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar solução de butanossulfonato de sódio 0,01 *M*, utilizando como solvente mistura de água, álcool metílico e ácido fórmico (85:15:0,4).

Solução (1): preparar solução a 4,8 mg/mL da amostra em *Fase móvel*. Filtrar se necessário.

Solução (2): preparar solução a 24 µg/mL de 4-aminofenol SQR em *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico correspondente ao 4-aminofenol obtido no cromatograma com a *Solução (1)* não é maior que a área sob o pico principal obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (0,5%). No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, picos com um longo tempo de retenção podem ocorrer devido à presença de conservantes na formulação.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução oral para balão volumétrico e diluir em álcool metílico de modo a obter solução a 1 mg/mL. Transferir 1 mL da solução resultante para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 249 nm, utilizando solução metanólica de ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_8H_9NO_2$ na solução oral a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1cm) = 880, em 249 nm.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 243 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 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e álcool metílico (75:25).

Solução amostra: transferir volume, medido com exatidão, de solução oral equivalente a 200 mg de paracetamol para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de paracetamol SQR em *Fase móvel*, de modo a obter concentração final de 0,01 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_8H_9NO_2$ na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

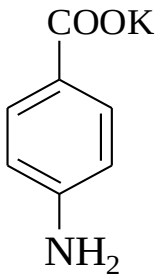
Conservar ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PARAMINOBENZOATO DE POTÁSSIO

Kalii 4-aminobenzoas



$C_7H_6KNO_2$; 175,23
paraminobenzoato de potássio; 09818
Sal de potássio do ácido 4-aminobenzoico (1:1)
[*138-84-1*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_7H_6KNO_2$ em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, cristalino.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em hidróxido de sódio 0,001 *M*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de paraminobenzoato de potássio SQR.

B. Dissolver cerca de 400 mg da amostra em 10 mL de água. Adicionar 1 mL de ácido clorídrico 3 *M*, filtrar e lavar o precipitado com duas alíquotas de 5 mL de água fria. Lavar com álcool etílico e deixar recristalizar. Dessecar o precipitado obtido a 110 °C por uma hora. O ponto de fusão **(5.2.2)** do ácido paraminobenzoico assim obtido se situa entre 186,0 °C e 189,5 °C.

C. A solução a 1% (p/v) da amostra satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 8,0 a 9,0. Determinar na solução a 5% (p/v).

Limite de substâncias voláteis diazotadas. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Solução (1): transferir 5 g de aminobenzoato de potássio para um frasco volumétrico de 50 mL. Adicionar uma quantidade de hidróxido de sódio *M* suficiente para dissolver a amostra e tornar o meio alcalino em relação à fenolftaleína. Completar o volume para 50 mL. Destilar em sistema de destilação com arraste de vapor e coletar cerca de 95 mL do destilado em um frasco de 100 mL. Completar com água até o volume e misturar.

Solução (2): dissolver 10 mg de p-toluidina em 5 mL de álcool metílico em balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: transferir 20 mL da *Solução (1)* e 20 mL da *Solução (2)*, separadamente, para balões volumétricos de 100 mL. Realizar ensaio em branco, transferindo 20 mL de água para um terceiro balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico *M* a cada um dos balões volumétricos e resfriar em banho de gelo. Adicionar, gota a gota, sob agitação, 2 mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV. Deixar em repouso durante cinco minutos para que a reação de diazotação se complete. Adicionar, rapidamente, 10 mL de solução de guaiacol resfriada, preparada recentemente, pela dissolução de 0,2 g de guaiacol em 100 mL de hidróxido de sódio *M*. Homogeneizar e deixar em repouso por 30 minutos. Determinar a absorvância **(5.2.14)** das soluções em 405 nm, utilizando o ensaio em branco para ajuste do zero. A absorvância da *Solução (1)* não deve ser maior que a apresentada pela *Solução (2)* (0,002%).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,8 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos.* No máximo, 0,02% (200 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 6 g da amostra em 40 mL de água e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos.* No máximo, 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método IV*. Utilizar 1 g da amostra em cadinho de sílica. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar, com exatidão, cerca de 1 g a 2 g de amostra e dessecar em estufa a 105 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 500 mg da amostra e transferir para um béquer. Adicionar 25 mL de água e 25 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Misturar e resfriar em banho de gelo. Titular com nitrito de sódio 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente, utilizando um eletrodo platina-calomelano. Cada mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV equivale a 17,523 mg de $C_7H_6KNO_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico

PERCLORATO DE POTÁSSIO
Kalii perchloras

$KClO_4$; 138,55
perclorato de potássio; 09834
Sal de potássio do ácido perclórico (1:1)
[*7778-74-7*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $KClO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco cristalino ou cristais incolores.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Preparar solução a 10% (p/v) da amostra em água e adicionar algumas gotas de cloreto de metiltionínio SR. Produz-se precipitado violeta.

B. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de água. Adicionar 5 mL de índigo carmim SR e aquecer até ebulição. A cor da solução não desaparece.

C. Satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

E. Satisfaz às reações do íon clorato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 1% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 5,0 a 6,5. Determinar em solução aquosa a 1,4% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. Pesar, com exatidão, cerca de 5 g da amostra e adicionar 90 mL de água. Aquecer até ebulição. Deixar esfriar e filtrar. Diluir o filtrado para 100 mL com água isenta de dióxido de carbono. A 5 mL desta solução, adicionar 5 mL de água e 0,1 mL de fenolftaleína SI. No máximo, 0,25 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* são necessários para a mudança de cor do indicador. A outros 5 mL dessa solução, adicionar 5 mL de água e 0,1 mL de solução de verde de bromocresol SI. No máximo, 0,25 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* são necessários para mudar a cor do indicador.

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, 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 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fase estacionária ligada a 5% de fenilpolisiloxano e 95% a metilpolisiloxano, com espessura do filme de 5 μm; temperatura da coluna de 35 °C a 260 °C (35 °C mantida durante cinco minutos, aumentada a 175 °C a 8 °C por minuto, aumentada a 260 °C a 35 °C e mantida à essa temperatura por pelo menos 16 minutos), temperatura do injetor a 70 °C e temperatura do detector a 260 °C; utilizar hélio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Solução amostra: dissolver em 50 mL de água isenta de compostos orgânicos, com exatidão, cerca de 1 g da amostra.

Solução padrão: preparar uma solução em água isenta de compostos orgânicos, contendo, em cada mL, 10 µg de cloreto de metileno, 1 µg de clorofórmio, 2 µg benzeno, 2 µg de dioxano e 2 µg de tricloroetileno.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* no cromatógrafo a gás. Obter os cromatogramas e medir a área sob os picos. Identificar, baseado no tempo de retenção, qualquer pico presente no cromatograma da *Solução amostra*. A presença e a identificação dos picos no cromatograma devem ser estabelecidas comparando os cromatogramas da *Solução amostra* e da *Solução padrão*. Limites: benzeno 2 ppm, clorofórmio 50 ppm, dioxano 100 ppm, cloreto de metileno 500 ppm e tricloroetileno 80 ppm.

Limite de substâncias insolúveis. Dissolver 20 g da amostra em 150 mL de água morna. Filtrar em um filtro de média porosidade, previamente pesado. Lavar com três porções de 50 mL de água morna. Secar o resíduo a 105 °C por três horas. O peso do resíduo não excede 0,005% (50 ppm).

Limite de cálcio. A opalescência desenvolvida na *Preparação amostra* após 15 minutos não é mais intensa do que na *Preparação padrão,* preparada de maneira semelhante. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Preparação amostra: pesar, com exatidão, cerca de 5 g da amostra transferir para um béquer e adicionar 90 mL de água. Aquecer até a ebulição. Deixar esfriar, filtrar para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada isenta de dióxido de carbono. Em um tubo de Nessler, misturar 0,2 mL de solução padrão etanólica de cálcio (100 ppm Ca) e 1 mL de oxalato de amônio SR. Depois de um minuto, adicionar 1 mL de ácido acético 2 *M* e 15 mL da solução contendo a amostra anteriormente preparada.

Preparação padrão: transferir para um tubo de Nessler (capacidade de 50 mL e 22 mm de diâmetro interno) 0,2 mL de solução padrão etanólica de cálcio (100 ppm Ca) e misturar com 1 mL de oxalato de amônio SR. Aguardar um minuto, adicionar 7,5 mL da solução padrão de cálcio (10 ppm Ca), 1 mL de ácido acético diluído e 7,5 mL de água destilada.

Sódio. Preparar uma solução a 10% (p/v) da amostra. Mergulhar uma alça de platina nessa solução e levar à chama. Não aparece coloração amarela pronunciada na chama.

Cloretos (5.3.2.1). Pesar 10 g da amostra e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Cloretos e cloratos (5.3.2.1). Pesar, com exatidão, cerca de 3,5 g da amostra, adicionar 30 mL de água, 1 mL de ácido nítrico e 0,1 g de nitrito de sódio. Deixar esfriar e proceder conforme *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,01% (100 ppm) (calculado como cloretos).

Sulfatos (5.3.2.2). Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra e dissolver em 40 mL de água. Proceder conforme *Ensaio limite para sulfatos.* Utilizar 0,5 mL da solução padrão. No máximo, 0,012% (120 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água, ajustar o pH para a faixa entre 3,0 e 4,0 com ácido acético *M* ou hidróxido de amônio 6 *M*. diluir com água e homogeneizar. Proceder conforme *Ensaio limite para metais pesados, Método I.* No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em sílica-gel. Dessecar por 12 horas. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 em coluna por troca iônica* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector por condutividade, coluna cromatográfica de 7,5 cm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com gel poroso de poliacrilato ou polimetacrilato com grupos de amônia quaternária com cerca de 10 μm; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 1,66 g de ácido ftálico em 1000 mL de água. Ajustar o pH para 4,5 com, aproximadamente, 0,45 g de hidróxido de lítio. Filtrar.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em água para obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 20 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de perclorato de potássio SQR em água para obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 20 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 0,1 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $KClO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antitireoidiano.

PERMANGANATO DE POTÁSSIO

Kalii permanganas

$KMnO_4$; 158,03
permanganato de potássio; 07000
Sal de potássio do ácido permangânico (1:1)
[*7722-64-7*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $KMnO_4$, em relação à substância dessecada.

Nota: *Cuidado! Explosões perigosas podem ocorrer se colocado em contato com substâncias orgânicas ou facilmente oxidáveis, tanto em solução como no estado seco.*

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais violeta escuro, com brilho metálico, inalteráveis ao ar.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água fervente e solúvel em água fria.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 50 mg da amostra em 5 mL de água. Adicionar 1 mL de álcool etílico e 0,3 mL de hidróxido de sódio SR. Desenvolve-se coloração verde. Aquecer até ebulição. Forma-se um precipitado castanho escuro.

B. Satisfaz às reações do íon permanganato **(5.3.1.1)**.

C. Filtrar a mistura obtida no teste **A.** de *Identificação*. O filtrado satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,75 g da amostra em 25 mL de água e adicionar 3 mL de álcool etílico. Aquecer até ebulição durante dois minutos. Esfriar e completar o volume para 30 mL com água. Filtrar. A preparação obtida é incolor **(5.2.12)**.

Limite de substâncias insolúveis em água. Dissolver, sob aquecimento, 0,5 g da amostra em 50 mL de água. Filtrar com filtro de vidro de média porosidade, previamente tarado e lavado com água, até obter um filtrado incolor. Recolher o resíduo e secar em estufa a (102,5 ± 2,5) °C. A massa do resíduo é, no máximo, 5 mg (1,0%).

Cloretos (5.3.2.1). A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, completar o volume para 15 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,02% (200 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). A 12 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, completar o volume para 15 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar, sob pressão reduzida, sobre sílica-gel, por 18 horas. No máximo, 0,5%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,125 g da amostra e dissolver em 25 mL de água. Adicionar uma solução previamente preparada de 2 mL de ácido sulfúrico em 5 mL de água, e 50 mL de ácido oxálico 0,05 *M* SV. Aquecer a solução a cerca de 80 °C. Titular o excesso de ácido oxálico com permanganato de potássio 0,02 *M* SV até que seja produzida coloração rosa pálida, persistente por 15 segundos. Cada mL de ácido oxálico 0,05 *M* SV equivale a 3,161 mg de $KMnO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

CLASSE TERAPÊUTICA

Antisséptico tópico.

PETROLATO BRANCO

petrolato branco; 09104
Óleo branco da parafina; vaselina branca
[*308069-07-0*]

Mistura purificada de hidrocarbonetos semissólidos obtidos do petróleo. Pode conter estabilizante adequado.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Massa untuosa, semissólida, branca ou levemente amarelada, praticamente inodora e insípida.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em clorofórmio, em éter etílico, em éter de petróleo,em dissulfeto de carbono e em óleos, praticamente insolúvel em glicerol e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,815 a 0,880. Determinar a 60 °C.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 38 °C a 60 °C.

ENSAIOS DE PUREZA

Cor de líquidos (5.2.12). Fundir cerca de 10 g da amostra em banho-maria e transferir 5 mL do líquido para um tubo de ensaio de vidro transparente de aproximadamente 16 mm de diâmetro e 150 mm de comprimento. O líquido derretido e quente não deve ser mais escuro do que uma solução preparada pela mistura de 1,6 mL de *Solução base de cloreto férrico* e 3,4 mL de água num tubo semelhante. Realizar a comparação contra um fundo branco, sendo que os tubos devem ser segurados diretamente contra o fundo num ângulo tal qual não haja fluorescência.

Acidez ou alcalinidade. Pesar 35 g da amostra num béquer e adicionar 100 mL de água fervente. Cobrir, colocar numa placa de aquecimento e manter a temperatura de ebulição da água durante cinco minutos. Em seguida, deixar em repouso até separação das fases. Retirar a camada aquosa e transferi-la para erlenmeyer. Lavar a amostra com duas porções adicionais de 50 mL de água fervente. Reunir as três camadas aquosas (a primeira, mais as águas de lavagem), adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI e aquecer até ebulição. A solução não deve tornar-se rósea. Caso a solução permaneça incolor, adicionar 0,1 mL de alaranjado de metila SI. A solução não deve se tornar vermelha ou rósea.

Consistência.

Aparelhagem. Determinar a consistência utilizando um penetrômetro, o qual deve possuir um pistão metálico polido, de 150 g, em forma de cone e uma ponta de aço destacável. A ponta do cone deve ter um ângulo de 30° e a extremidade truncada um diâmetro de (0,381 ± 0,025) mm. O diâmetro da base da ponta deve ser de (8,38 ± 0,05) mm e o comprimento da ponta deve ser de (14,94 ± 0,05) mm. A porção restante do cone deve ter um ângulo de 90°, altura de cerca de 28 mm e diâmetro máximo na base de cerca de 65 mm. Os recipientes para o teste devem ser cilindros metálicos de fundo chato, cujo diâmetro deve ser de (100 ± 6) mm e altura de, no mínimo, 65 mm. Eles devem ser fabricados com metal de 1,6 mm e devem apresentar tampas bem vedadas e impermeáveis à água.

Procedimento: aquecer, em forno, quantidade suficiente da amostra a (82 ± 2,5) °C e transferir para os cilindros previamente aquecidos à mesma temperatura, preenchendo até 6 mm da borda. Resfriar a (25 ± 2,5) °C por um período de, no mínimo, 16 horas, protegendo da exposição ao ambiente. Duas horas antes do teste, colocar os cilindros num banho-maria a (25 ± 0,5) °C. Se a temperatura ambiente estiver abaixo de 23,5 °C ou acima de 26,5 °C, ajustar a temperatura do cone a (25 ± 0,5) °C, colocando-o num banho-maria. Sem provocar distúrbios na superfície da amostra, colocar o cilindro na mesa do penetrômetro e abaixar o cone até que a ponta toque a superfície da amostra num ponto de 25 mm a 38 mm abaixo da borda do cilindro. Zerar a escala do aparelho e liberar rapidamente o pistão, então deixá-lo livre por cinco segundos. Fixar o pistão e realizar a leitura. Fazer três ou mais leituras, cada uma espaçada da outra, de modo que não haja sobreposição das áreas de penetração. Quando a penetração exceder 20 mm, usar um recipiente separado com a amostra para cada teste. Ler a penetração até décimos de milímetro. Calcular a média de três ou mais leituras e realizar mais testes, até um total de 10, se os resultados individuais diferirem da média por mais de 3%. A média de todos os testes deve ser, no mínimo, 10 mm e, no máximo, 30 mm, indicando um valor de consistência entre 100 e 300.

Ácidos orgânicos. Pesar 20 g da amostra e adicionar 100 mL de uma mistura de álcool etílico previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1 *M* e água (1:2). Agitar a solução e aquecer até a ebulição. Adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e titular rapidamente com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, sob agitação vigorosa, até coloração rósea, observada na camada hidroalcoólica. No máximo, 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV é necessário para promover a viragem do indicador.

Óleos fixos, gorduras e resina. Aquecer 10 g da amostra com 50 mL de hidróxido de sódio 5 *M* a 100 °C por 30 minutos. Separar a camada aquosa e acidificá-la com ácido sulfúrico 2,5 *M*. Não deve ocorrer separação de nenhum material oleoso ou sólido.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2 g da amostra. Não deve ocorrer liberação de odor irritante durante o aquecimento. No máximo, 0,05%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Excipiente.

PETROLATO LÍQUIDO
Paraffinum liquidum

petrolato líquido; 09388
Óleos da parafina
[*8012-95-1*]

Mistura de hidrocarbonetos líquidos obtidos do petróleo.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido oleoso, límpido, incolor e não fluorescente à luz do dia.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico e miscível com hidrocarbonetos.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 0,827 a 0,890.

Viscosidade **(5.2.7)**: 110 mPa.s a 230 mPa.s.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de petrolato líquido SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Em um tubo de ensaio, ferver cuidadosamente 1 mL da amostra com 1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, com agitação contínua por cerca de 30 segundos. Deixar esfriar a temperatura ambiente, formando duas fases. Adicionar à fase aquosa 0,1 mL de fenolftaleína SI. Produz-se coloração rosa.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Agitar vigorosamente 10 mL de amostra com 20 mL de água fervente por um minuto. Separar a fase aquosa e filtrar. A 10 mL de filtrado, adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. A solução é incolor. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* são necessários para mudar a cor do indicador para rosa.

Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Usar reagentes para espectrofotometria. Introduzir 25 mL num funil de separação de 125 mL com rolha esmerilhada. Adicionar 25 mL de hexano, previamente agitado duas vezes com 5 mL de dimetilsulfóxido. Misturar e adicionar 5 mL de dimetilsulfóxido. Agitar vigorosamente por um minuto e deixar de repouso para formação de duas fases. Transferir a camada de baixo para um segundo funil de separação e adicionar mais 2 mL de hexano e agitar vigorosamente. Deixar de repouso para formação de duas fases. Separar a camada de baixo e medir a absorvância **(5.2.14)** entre 260 nm a 420 nm. Preparar branco em paralelo, utilizando a camada de baixo, obtida na agitação vigorosa em funil de separação de 5 mL de dimetilsulfóxido com 25,0 mL de hexano. Preparar uma solução padrão de naftaleno a 7 mg/L em iso-octano e medir a absorvância a 275 nm, utilizando iso-octano como branco. Em nenhum comprimento de onda entre 260 nm e 420 nm a absorvância da solução amostra excede a um terço da absorvância da solução padrão a 275 nm.

Substâncias carbonizáveis. Usar um tubo com rolha esmerilhada de aproximadamente 125 mm de comprimento e 18 mm de diâmetro interno, graduado em 5 mL e 10 mL; lavar com solução de limpeza ácido crômico, lavar com água e secar. Introduzir 5 mL da amostra e 5 mL de ácido sulfúrico isento de nitrogênio. Inserir a rolha e agitar o mais vigorosamente possível na direção longitudinal do tubo por cinco segundos. Após a retirada da tampa, colocar imediatamente o tubo num banho de água, evitando o contato do tubo com o fundo ou lateral do banho, e aquecer. Após dois minutos, quatro minutos, seis minutos e oito minutos, remover o tubo do banho e agitar o mais vigorosamente possível na direção longitudinal do tubo por cinco segundos. No final de 10 minutos de aquecimento, remover o tubo do banho de água e deixar em repouso por 10 minutos. Centrifugar a 2000 g por cinco minutos. Transferir 4 mL da camada superior para um tubo de ensaio limpo. A coloração não é mais intensa **(5.2.12)** que 4 mL de uma mistura de 0,6 mL de uma solução padrão marrom e 9,4 mL de uma solução de ácido clorídrico a 1% (p/v). A camada inferior não é de coloração mais intensa que uma mistura de 0,5 mL de *Solução base de sulfato cúprico*, 1,5 mL de *Solução base de cloreto cobaltoso*, 3 mL de *Solução base de cloreto férrico* e 2 mL de ácido clorídrico a 1% (p/v).

Parafinas sólidas. Secar quantidade suficiente de amostra por aquecimento a 100 °C por duas horas e resfriar num dessecador com ácido sulfúrico. Acondicionar num tubo de vidro com diâmetro interno de 25 mm, fechar o tubo e colocar em banho de água gelada. Após quatro horas, o líquido é suficientemente translúcido, para se ver facilmente uma linha preta, de 0,5 mm de largura, num fundo branco, quando posto verticalmente atrás do tubo.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados, protegidos da luz.

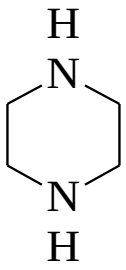
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante farmacotécnico.

PIPERAZINA
Piperazinum



$C_4H_{10}N_2$; 86,14
piperazina; 07099
Piperazina
[*110-85-0*]

$C_4H_{10}N_2.6H_2O$; 194,23
piperazina hexaidratada; 09518
Piperazina hexaidratada
[*142-63-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_4H_{10}N_2$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Grumos ou flocos brancos ou esbranquiçados.

Solubilidade. Solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: entre 109 °C e 113 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver cerca de 0,2 g da amostra em 5 mL de ácido clorídrico diluído e adicionar, com agitação, 1 mL de solução de nitrito de sódio a 50% (p/v). Resfriar em banho de gelo por 15 minutos, agitar, se necessário, para induzir a cristalização. Filtrar o precipitado em funil de fundo poroso, lavar o precipitado com 10 mL de água fria e dessecar a 105 °C: a *N,N'*-dinitrosopiperazina assim obtida se funde **(5.2.2)** entre 156 °C e 160 °C.

B. Satisfaz às reações do íon citrato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 10 g da amostra em água e diluir para 50 mL utilizando o mesmo solvente. A preparação obtida não é mais corada **(5.2.12)** que a solução referência, preparada pela adição de 2 mL de *Solução base de cloreto férrico* em água e diluída para 50 mL com o mesmo solvente, quando comparadas em tubos de Nessler.

Aminas primárias e amônia. Dissolver 0,2 g da amostra em 10 mL de água, adicionar 1 mL de acetona e 0,5 mL de solução recentemente preparada de nitroprusseto de sódio a 10% (p/v). Misturar e deixar em repouso por 10 minutos. Medir a absorvância **(5.2.14)** dessa solução a 520 nm e a 600 nm, preparando o branco da mesma maneira que a solução anteriormente descrita, exceto pela amostra. A razão entre a absorvância a 600 nm e a absorvância a 520 nm é, no máximo, 0,5 (equivale a cerca de 0,7% de aminas primárias e amônia).

Água (5.2.20.1). No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da amostra e dissolver em 75 mL de ácido acético glacial. Titular potenciometricamente com ácido perclórico 0,1 *M* SV, utilizar o sistema eletrodo prata-vidro. Ao aproximar-se do ponto de viragem, aquecer a solução entre 68 °C e 70 °C e em seguida completar a titulação. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* equivale a 4,307 mg de $C_4H_{10}N_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos protegidos da luz.

ROTULAGEM

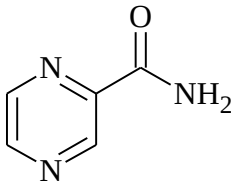
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico.

PIRAZINAMIDA

Pyrazinamidum



$C_5H_5N_3O$; 123,12
pirazinamida; 07141
2-Pirazinacarboxamida
[*98-96-4*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_5H_5N_3O$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 188 ºC a 191 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

O teste **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B., C.** e **D.** *Os testes* **B.** e **C.** *podem ser omitidos se forem realizados os testes* **A.** e **D**.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de pirazinamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em água, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro de solução similar de pirazinamida SQR.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de água. Adicionar 1 mL de sulfato ferroso acidificado SR. Desenvolve-se coloração alaranjada. Adicionar 1 mL de hidróxido de sódio SR. A solução torna-se azul-escura.

D. Aquecer à ebulição 20 mg da amostra com 5 mL de hidróxido de sódio 5 *M*. Desprende-se odor característico de amônia.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,5 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e diluir para 50 mL no mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. A 25 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 0,5 mL de fenoftaleína SI e 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*. A preparação torna-se rósea. Adicionar 1,0 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. A preparação torna-se incolor. Adicionar 0,12 mL de vermelho de metila SI. A preparação torna-se vermelha.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido acético glacial, água e álcool butílico (20:20:60), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 50 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL, diluir em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9) e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9). Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (3): transferir 10 mg de ácido nicotínico SQR para balão volumétrico de 10 mL, dissolver em mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (1:9), adicionar 1 mL da *Solução (1)* e completar o volume com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1),* diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%). O teste somente é válido se, no cromatograma obtido com a *Solução (3),* houver duas manchas principais nitidamente separadas.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra em 50 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 12,312 mg de $C_5H_5N_3O$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Tuberculostático.

PIRAZINAMIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_5H_5N_3O$.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.**, **C.** e **D**. poderão ser omitidos se for realizado o teste **A.** O teste de identificação **B.** poderá ser omitido se forem realizados os testes **A.**, **C.** e **D**. O teste de identificação **C.** poderá ser omitido se forem realizados os testes **A.**, **B.** e **D**.*

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade de pó equivalente a 50 mg de pirazinamida com 50 mL de álcool etílico absoluto. Filtrar e evaporar o filtrado até secura. Secar o resíduo em estufa a 105 ºC por 30 minutos. O resíduo responde ao teste **A.** de *Identificação* na monografia de *Pirazinamida*.

B. O espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm da solução amostra, obtida no método **A.** de *Doseamento*, exibe máximos de absorção idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** do *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Ferver quantidade do pó equivalente a 20 mg de pirazinamida com 5 mL de hidróxido de sódio 5 *M*. Desprende-se odor característico de amônia.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 500 mL contendo 350 mL de água e aguardar desintegração total do comprimido. Prosseguir conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*, a partir de "Deixar em ultrassom por 15 minutos...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL

Aparelhagem: pás, 50 rpm

Tempo: 45 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 268 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_5H_5N_3O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de pirazinamida SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente. Alternativamente, realizar os cálculos utilizando A(1%, 1cm) = 650, em 268 nm, em água.

Tolerância: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_5H_5N_3O$ se dissolve em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Pirazinamida.* Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Dissolver quantidade do pó equivalente a 0,1 g de pirazinamida em 50 mL de mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:9), agitar por 15 minutos. Filtrar, evaporar o filtrado até secura e dissolver o resíduo com o mesmo solvente, até completar 10 mL.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:9). Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha obtida no cromatograma da *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa do que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Água (5.2.20.1). No máximo 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de pirazinamida para balão volumétrico de 500 mL contendo 350 mL de água. Deixar em ultrassom por 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir, em água, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes no comprimento de onda de 268 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_5H_5N_3O$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1cm) = 650, em 268 nm, em água.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 0,6805 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 250 mL, dissolver em água e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir a solução obtida para balão volumétrico de 1000 mL. Adicionar 18 mL de hidróxido de sódio 0,2 *M* e completar o volume com água. Ajustar o pH para 3,0 ± 0,2 com ácido fosfórico. Misturar 10 mL de acetonitrila com 1000 mL dessa solução, filtrar e desgaseificar.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de pirazinamida para balão volumétrico de 100 mL, acrescentar 70 mL de água. Deixar em ultrassom por 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 1 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água.

Solução padrão: transferir 50 mg de pirazinamida SQR para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em água e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução de resolução: transferir 1 mL de ácido clorídrico para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com a *Solução padrão*. Deixar essa solução em banho de água fervente por cinco minutos, para formação do ácido pirazinoico. Resfriar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna deve ser, no mínimo, 2500 pratos teóricos. O fator de cauda deve ser, no máximo, 1,3. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução.* Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,45 para o ácido pirazinoico e 1,0 para a pirazinamida. A resolução entre o ácido pirazinoico e a pirazinamida deve ser, no mínimo, 6,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções padrão* e *amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_5H_5N_3O$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para as *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

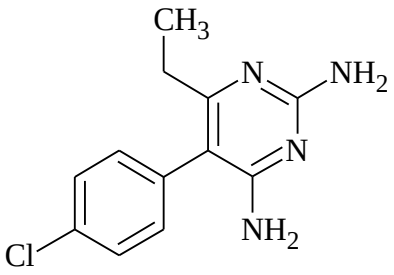
Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PIRIMETAMINA

Pyrimethaminum



$C_{12}H_{13}ClN_4$; 248,71
pirimetamina; 07170
5-(4-Clorofenil)-6-etil-2,4-pirimidinodiamina
[*58-14-0*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{12}H_{13}ClN_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino quase branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 239 ºC a 243 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de pirimetamina SQR.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, preparada com aquecimento, se necessário, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de pirimetamina SQR.

C. A mancha principal do cromatograma da S*olução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

D. Transferir para cadinho cerca de 1 g de amostra e 5 g de carbonato de sódio anidro. Misturar e aquecer até a ignição. Resfriar, adicionar 5 mL de água quente, deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos, filtrar e neutralizar o filtrado com ácido nítrico. A solução resultante satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Transferir 1 g da amostra para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de água, agitar por dois minutos, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. A 10 mL

da solução, adicionar 0,5 mL de fenolftaleína SI. No máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* é necessário para promover a viragem do indicador. Adicionar 0,05 mL de vermelho de metila SI e 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Desenvolve-se coloração vermelha ou alaranjada.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool *n*-propílico, ácido acético glacial e tolueno (4:8:12:76), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:9).

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:9).

Solução (3): solução a 1 mg/mL de pirimetamina SQR em mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:9).

Solução (4): transferir 2,5 mL da S*olução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e clorofórmio (1:9). Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com a mesma mistura de solventes.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a S*olução (4)* (0,25%).

Sulfatos (5.3.2.2). Transferir 1 g da amostra para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de água, agitar por dois minutos, completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Utilizar 15 mL do filtrado. Preparar solução padrão de sulfato na concentração de 0,001% (10 ppm). No máximo, 0,008% (80 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 ºC e 105 ºC, por quatro horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra e dissolver em 25 mL de ácido acético glacial, aquecendo suavemente. Resfriar e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 24,871 mg de $C_{12}H_{13}ClN_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico e antitoxoplasmose.

PIRIMETAMINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{13}ClN_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,2 g de pirimetamina para béquer e adicionar 25 mL de acetona, aquecer à ebulição por 2 minutos e filtrar através de cadinho de vidro sinterizado. Repetir este tratamento três vezes com porções de 25 mL de acetona. Evaporar os filtrados combinados em banho-maria à secura, com auxílio de corrente de ar. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de pirimetamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 300 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento,* há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da solução padrão, preparada de maneira idêntica.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 272 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{13}ClN_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de pirimetamina SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{12}H_{13}ClN_4$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 25 mg de pirimetamina para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Aquecer em banho-maria por 10 minutos e deixar em banho de ultrassom durante 30 minutos. Resfriar, completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*, obtendo solução a 12,5 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 272 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{13}ClN_4$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 316, em 272 nm, em ácido clorídrico 0,1 *M*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

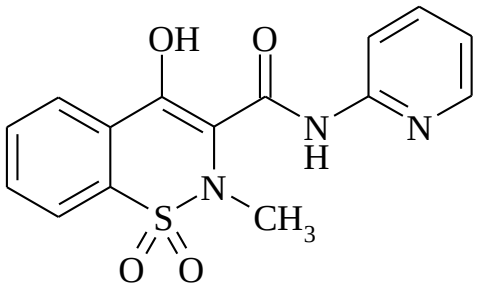
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PIROXICAM

Piroxicamum



$C_{15}H_{13}N_3O_4S$; 331,35
piroxicam; 07211
1,1-dióxido 4-hidroxi-2-metil-*N*-2-piridinil-2*H*-1,2-benzotiazino-3-carboxamida
[*36322-90-4*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou sólido cristalino, branco ou ligeiramente amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico. Pouco solúvel em soluções aquosas alcalinas e muito pouco solúvel em soluções de ácidos diluídos.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de piroxicam SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico metanólico 0,01 *M*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de piroxicam SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de tolueno e ácido acético glacial (95:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Solução (2): solução a 1 mg/mL de piroxicam SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 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 1,2 mL/minuto.

Tampão fosfato: dissolver cerca de 7,72 g de ácido cítrico anidro em 400 mL de água e, separadamente, dissolver cerca de 5,35 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 100 mL de água. Adicionar a solução de fosfato à solução de ácido cítrico, diluir com água para volume de 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato* e álcool metílico (55:45).

Diluente: mistura de ácido clorídrico metanólico 0,01 *M* e água (4:1).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de ácido clorídrico metanólico 0,01 *M* e levar a banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com ácido clorídrico metanólico 0,01 *M* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa preparação para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar, obtendo solução a 50 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de piroxicam SQR em ácido clorídrico metanólico 0,01 *M* para obter solução a 0,25 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar, obtendo solução a 50 µg/mL.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 500 pratos teóricos. O fator cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

PIROXICAM CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 354 nm, idêntico ao observado no espectro da *Solução padrão*.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3).*

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota de 10 mL do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até a concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 242 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ dissolvida no meio usando o valor de A(1%, 1 cm) = 352, em 242 nm, em ácido clorídrico 0,1 *M*.

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de tolueno e ácido acético glacial (90:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 μL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): misturar quantidade do pó contendo 80 mg de piroxicam com 25 mL de cloreto de metileno, filtrar e levar o filtrado a secura usando evaporador rotatório. Dissolver o resíduo em 2 mL de cloreto de metileno.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* em 20 mL de cloreto de metileno.

Solução (3): preparar solução de piroxicam SQR a 2 mg/mL em cloreto de metileno.

Solução (4): diluir 2 mL da *Solução (2)* em 50 mL de cloreto de metileno.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (4)* (0,2%). Desconsiderar qualquer mancha remanescente na linha de aplicação.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de piroxicam para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração final de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 354 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 248 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm), mantidas a temperatura ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Tampão fosfato de sódio dibásico: dissolver 5,35 g de fosfato de sódio dibásico dodecaidratado em 100 mL de água. Dissolver 7,72 g de ácido cítrico em 400 mL de água. Transferir as duas soluções para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e *Tampão fosfato de sódio dibásico* (60:40).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de piroxicam para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 150 mL de ácido clorídrico metanólico 0,01 *M*, agitar e deixar em banho de ultrassom a temperatura ambiente durante 30 minutos. Resfriar e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar a solução com filtro quantitativo.

Solução padrão: preparar solução a 50 µg/mL de piroxicam SQR em ácido clorídrico metanólico 0,01 *M*. Submeter a solução, se necessário, a banho de ultrassom à temperatura ambiente.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

PIROXICAM GEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetato de etila, álcool metílico e ácido acético glacial (80: 10: 1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): misturar quantidade de gel contendo 10 mg de piroxicam com 0,1 mL da solução saturada de ácido clorídrico até que a solução fique turva. Diluir para 5 mL com ácido clorídrico metanólico 0,01 *M*. Agitar bem, centrifugar e utilizar a solução sobrenadante límpida. Filtrar, se necessário.

Solução (2): preparar solução a 0,2% (p/v) de piroxicam SQR em ácido clorídrico metanólico 0,01 *M*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida no cromatograma da *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 7,2 a 8,2. Determinar em solução do gel a 10% (p/v).

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 248 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (3 µm a 10 µm), e pré-coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno quimicamente ligada a octilsilano (5 µm), mantidas à temperatura de 40 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.
Fase móvel: mistura de fosfato de sódio dibásico di-hidratado 0,05 *M*, com o pH ajustado para 3,5 com ácido fosfórico, acetonitrila e álcool metílico (55:30:15).

Solução amostra: transferir quantidade de gel equivalente a 5 mg de piroxicam para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de ácido clorídrico metanólico 0,01 *M* e agitar por 30 minutos. Adicionar 50 mL de *Fase móvel* e agitar vigorosamente por 30 minutos. Completar o volume

com a *Fase móvel* e agitar. Filtrar a solução com filtro de microfibra de vidro de 1,0 μm de diâmetro de poro.

Solução padrão: preparar uma solução a 1 mg/mL de piroxicam SQR em ácido clorídrico metanólico 0,01 *M*. Submeter a solução, se necessário, a banho de ultrassom à temperatura ambiente. Retirar alíquota de 5 mL dessa solução, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ no gel a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

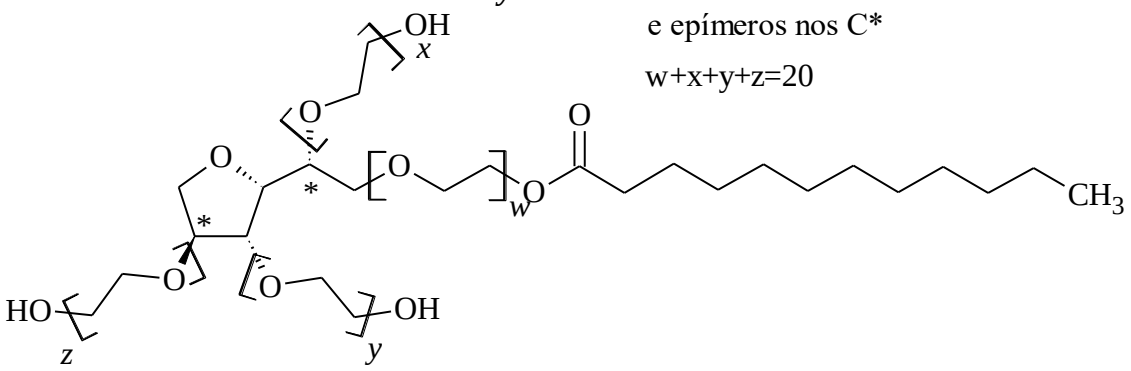
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

POLISSORBATO 20

Polysorbatum 20



polissorbato 20; 07272
Derivados de poli(oxi-1,2-etanodi-il) do monododecanoato de sorbitana
[*9005-64-5*]

Mistura de ésteres láuricos parciais de sorbitol e seus anidridos copolimerizados, com aproximadamente 20 mols de óxido de etileno para cada mol de sorbitol e seus anidridos. O ácido láurico, usado na esterificação, pode conter quantidades variáveis de outros ácidos graxos.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Líquido oleoso, límpido ou ligeiramente opalescente, de cor amarelada ou âmbar. *Densidade relativa* **(5.2.5)**: cerca de 1,1.

Solubilidade. Miscível com água, com álcool etílico absoluto, com acetato de etila e com álcool metílico. Praticamente insolúvel em óleos fixos e em parafina líquida.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,5 g da amostra em água, a aproximadamente 50 ºC, e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. A solução produz espuma abundante após agitação. Adicionar 0,5 g de cloreto de sódio e aquecer até ebulição. A turvação formada desaparece com o resfriamento a cerca de 50 ºC.

B. Aquecer, sob refluxo, 4 g da amostra em banho-maria por 30 minutos com 40 mL de hidróxido de potássio a 5% (p/v). Resfriar até cerca de 80 ºC, acidificar com 20 mL de ácido nítrico 2 *M* e aquecer, sob refluxo, por cerca de 10 minutos, de forma a separar a emulsão. Os ácidos graxos permanecem na superfície como líquido oleoso. Resfriar à temperatura ambiente e extrair com 50 mL de éter de petróleo (faixa de destilação entre 40 ºC e 60 ºC), evitando agitação vigorosa. Lavar a fase orgânica com três porções de 5 mL de água e evaporar em banho-maria até secura. O índice de acidez **(5.2.29.7)**, determinado em 0,3 g do resíduo com 50 mL do solvente, é de 245 a 300.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de clorofórmio, adicionar 0,1 g de tiocianato de potássio e 0,1 g de nitrato de cobalto (II) e misturar com bastão de vidro. Desenvolve-se coloração azul.

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de acidez (5.2.29.7). Determinar em 5 g da amostra. No máximo, 2,0.

Índice de hidroxila (5.2.29.12). 96 a 108. Determinar em 2 g da amostra.

Índice de iodo (5.2.29.10). No máximo, 5,0.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 40 a 50. Usar 15 mL de hidróxido de potássio alcoólico 0,5 *M* SV e diluir com 50 mL de água antes da titulação.

Impurezas redutoras. Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água quente, adicionar 25 mL de ácido sulfúrico *M* e 0,1 mL de ferroína SI. Titular com nitrato cérico amoniacal 0,01 *M* SV, agitando continuamente até que a coloração mude de vermelha para azul-esverdeada persistente por 30 segundos. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. No máximo, 2 mL de nitrato cérico amoniacal 0,01 *M* SV são gastos.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20). Determinar em 1 g. No máximo, 3,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Transferir 2 g da amostra para cadinho de platina ou de sílica, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico e aquecer em banho-maria por duas horas. Aquecer cuidadosamente em bico de gás até carbonização completa. Adicionar, à massa carbonizada, 2 mL de ácido nítrico e 0,25 mL de ácido sulfúrico, aquecer cuidadosamente até desenvolvimento de fumaça branca e incinerar a 600 ºC até peso constante. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

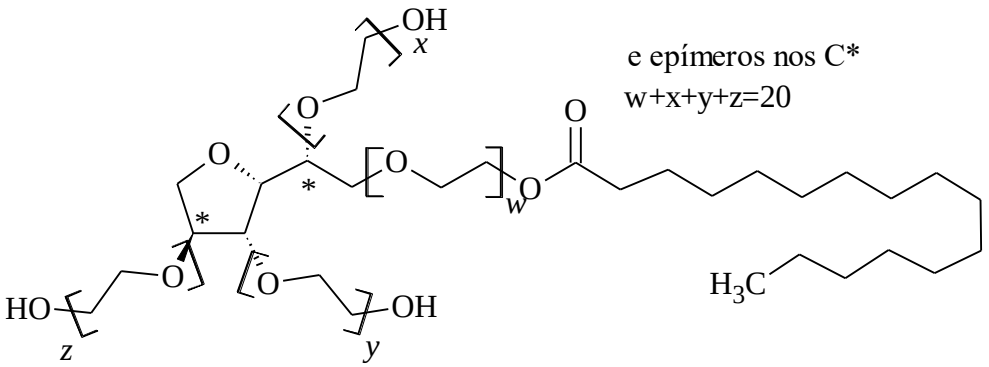
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tensoativo não iônico. Emulsionante, solubilizante e umectante.

POLISSORBATO 40

Polysorbatum 40



polissorbato 40; 07273
Derivados de poli(oxi-1,2-etanodi-il) do monohexadecanoato de sorbitana
[*9005-66-7*]

Éster palmítico de sorbitol e seus anidridos copolimerizados, com aproximadamente 20 mols de óxido de etileno para cada mol de sorbitol e seus anidridos.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido amarelo com forte odor característico.

Solubilidade. Solúvel em água e em álcool etílico. Insolúvel em óleo mineral e em óleos vegetais.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 5 mL de solução da amostra (1:20), adicionar 5 mL de hidróxido de sódio *M*. Aquecer à ebulição por alguns minutos, resfriar e acidificar com ácido clorídrico 3 *M*. A preparação torna-se fortemente opalescente.

B. A 2 mL de solução da amostra (1:20), adicionar, gota a gota, 0,5 mL de água de bromo SR. O bromo não sofre descoloração (ao contrário do polissorbato 80).

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de hidroxila (5.2.29.12). 89 a 105. Determinar em 2 g da amostra.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 41 a 52. Utilizar 15 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV e diluir com 50 mL de água antes da titulação.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20). Determinar em 1 g. No máximo, 3,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Transferir 2 g da amostra para cadinho de platina ou de sílica, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico e aquecer em banho-maria por duas horas. Aquecer cuidadosamente em bico de gás até carbonização completa. Adicionar, à massa carbonizada, 2 mL de

ácido nítrico e 0,25 mL de ácido sulfúrico, aquecer cuidadosamente até desenvolvimento de fumaça branca e incinerar a 600 ºC até peso constante. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

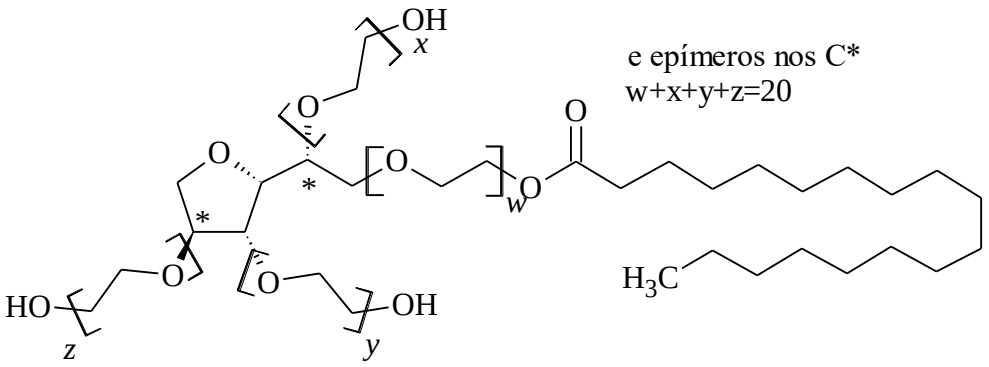
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tensoativo não iônico. Emulsionante, solubilizante e umectante.

POLISSORBATO 60

Polysorbatum 60



polissorbato 60; 07274
Derivados de poli(oxi-1,2-etanodi-il) do mono-octadecanoato de sorbitana
[*9005-67-8*]

Mistura de ésteres esteáricos parciais de sorbitol e seus anidridos copolimerizados, com aproximadamente 20 mols de óxido de etileno para cada mol de sorbitol e seus anidridos. O ácido esteárico usado para a esterificação pode conter outros ácidos graxos, especialmente o ácido palmítico.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Massa gelatinosa de cor marrom-amarelada. Apresenta-se como líquido límpido em temperatura acima de 25 ºC. *Densidade relativa* **(5.2.5)**: cerca de 1,1.

Solubilidade. Miscível com água, com álcool etílico absoluto, com acetato de etila e com álcool metílico. Praticamente insolúvel em óleos fixos e em parafina líquida.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,5 g da amostra em água, a aproximadamente 50 ºC, e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. A solução produz espuma abundante após agitação. Adicionar 0,5 g de cloreto de sódio e aquecer até a fervura. A turvação formada desaparece com o resfriamento a cerca de 50 ºC.

B. Aquecer, sob refluxo, 4 g da amostra em banho-maria por 30 minutos com 40 mL de hidróxido de potássio a 5% (p/v). Resfriar até cerca de 80 ºC, acidificar com 20 mL de ácido nítrico 2 *M* e ferver por cerca de 10 minutos, sob refluxo, de forma a separar a emulsão. Os ácidos graxos permanecem na superfície como líquido oleoso. Resfriar até a temperatura ambiente e extrair com 50 mL de éter de petróleo (faixa de destilação entre 40 °C e 60 °C), evitando agitação vigorosa. Lavar a fase orgânica com três porções de 5 mL de água e evaporar em banho-maria até secura. O índice de acidez **(5.2.29.7)**, determinado em 0,5 g do resíduo com 50 mL do solvente, é de 190 a 220.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de clorofórmio, adicionar 0,1 g de tiocianato de potássio e 0,1 g de nitrato de cobalto (II) e misturar com bastão de vidro. Desenvolve-se coloração azul.

D. A 5 mL de solução da amostra (1:20), adicionar 5 mL de hidróxido de sódio *M*. Ferver por alguns minutos, resfriar e acidificar com ácido clorídrico 3 *M*. A preparação torna-se fortemente opalescente.

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de acidez (5.2.29.7). Determinar em 5 g da amostra. No máximo, 2,0.

Índice de hidroxila (5.2.29.12). 81 a 96. Determinar em 2 g da amostra.

Índice de iodo (5.2.29.10). No máximo, 5,0.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 45 a 55. Usar 15 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV e diluir com 50 mL de água antes da titulação.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 3,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Transferir 2 g da amostra para cadinho de platina ou de sílica, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico e aquecer em banho-maria por duas horas. Aquecer cuidadosamente em bico de gás até carbonização completa. Adicionar, à massa carbonizada, 2 mL de ácido nítrico e 0,25 mL de ácido sulfúrico, aquecer cuidadosamente até desenvolvimento de fumaça branca e incinerar a 600 ºC até peso constante. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

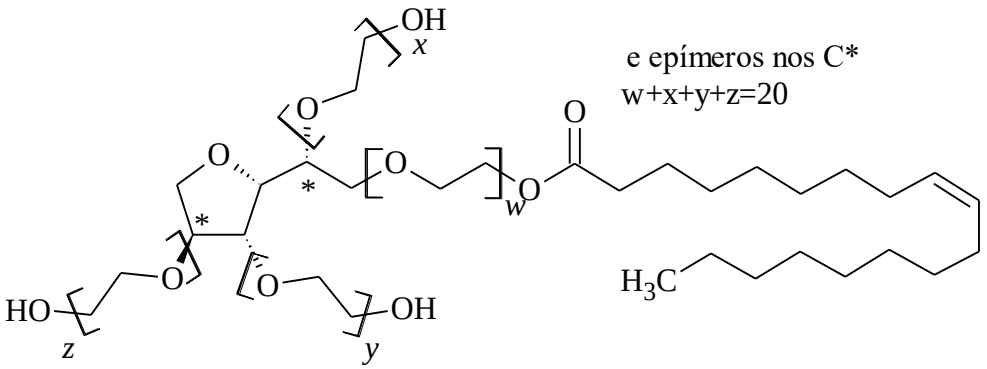
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tensoativo não iônico. Emulsionante, solubilizante e umectante.

POLISSORBATO 80

Polysorbatum 80



polissorbato 80; 07275
Derivados de poli(oxi-1,2-etanodi-il) do mono-(9Z)-9-octadecenoato de sorbitana
[*9005-65-6*]

Mistura de ésteres oleicos parciais de sorbitol e seus anidridos copolimerizados, com aproximadamente 20 mols de óxido de etileno para cada mol de sorbitol e seus anidridos.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Líquido oleoso, límpido, de cor amarela ou marrom clara, com odor característico e sabor ligeiramente amargo. *Densidade relativa* **(5.2.5)**: cerca de 1,1. *Viscosidade* **(5.2.7)**: cerca de 400 mPa.

Solubilidade. Miscível com água, com álcool etílico absoluto, com acetato de etila e com álcool metílico. Praticamente insolúvel em óleos fixos e em parafina líquida.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 0,5 g da amostra em água, a aproximadamente 50 ºC, e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. A solução produz espuma abundante após agitação. Adicionar 0,5 g de cloreto de sódio e aquecer até a fervura. A turvação formada desaparece com o resfriamento a cerca de 50 ºC.

B. Aquecer, sob refluxo, 4 g da amostra em banho-maria por 30 minutos com 40 mL de hidróxido de potássio a 5% (p/v). Resfriar até cerca de 80 ºC, acidificar com 20 mL de ácido nítrico 2 *M* e aquecer à ebulição por cerca de 10 minutos sob refluxo, de forma a separar a emulsão. Os ácidos graxos permanecem na superfície como líquido oleoso. Resfriar até a temperatura ambiente e extrair com 50 mL de éter de petróleo (faixa de destilação entre 40 °C e 60 °C), evitando agitação vigorosa. Lavar a fase orgânica com três porções de 5 mL de água e evaporar em banho-maria até secura. Ressuspender o resíduo obtido com mistura de 2 mL de ácido nítrico e 3 mL de água. Adicionar cuidadosamente, em pequenas porções, 0,5 g de nitrito de sódio e deixar em repouso à temperatura ambiente. A camada de ácido graxo se solidifica em quatro horas.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de clorofórmio, adicionar 0,1 g de tiocianato de potássio e 0,1 g de nitrato de cobalto (II) e misturar com bastão de vidro. Desenvolve-se coloração azul.

D. A 5 mL de solução da amostra (1:20), adicionar 5 mL de hidróxido de sódio *M*. Aquecer à ebulição por alguns minutos, resfriar e acidificar com ácido clorídrico 3 *M*. A preparação torna-se fortemente opalescente.

E. A 2 mL de solução da amostra (1:20), adicionar, gota a gota, 0,5 mL de água de bromo SR. O bromo sofre descoloração (ao contrário do polissorbato 40).

ENSAIOS DE PUREZA

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 2,0.

Índice de hidroxila (5.2.29.12). 65 a 80. Determinar em 2 g da amostra.

Índice de iodo (5.2.29.10). 18 a 24.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 45 a 55. Usar 15 mL de hidróxido de potássio etanólico 0,5 *M* SV e diluir com 50 mL de água antes da titulação.

Impurezas redutoras. Dissolver 2 g da amostra em 25 mL de água quente, adicionar 25 mL de ácido sulfúrico *M* e 0,1 mL de ferroína SI. Titular com nitrato cérico amoniacal 0,01 *M* SV, agitando continuamente até que a coloração mude de vermelha para azul-esverdeada, persistente por 30 segundos. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. No máximo, 5 mL de nitrato cérico amoniacal 0,01 *M* SV são gastos.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 3,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Transferir 2 g da amostra para cadinho de platina ou de sílica, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico e aquecer em banho-maria por duas horas. Aquecer cuidadosamente em bico de gás até carbonização completa. Adicionar, à massa carbonizada, 2 mL de ácido nítrico e 0,25 mL de ácido sulfúrico, aquecer cuidadosamente até desenvolvimento de fumaça branca e incinerar a 600 ºC até peso constante. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes bem fechados e protegidos da luz.

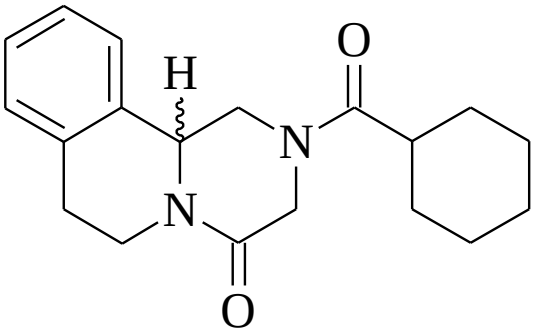
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente tensoativo não iônico. Emulsionante, solubilizante e umectante.

PRAZIQUANTEL
Praziquantelum



$C_{19}H_{24}N_2O_2$; 312,41
praziquantel; 07321
2-(Cicloexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexaidro-4*H*pirazino[2,1-*a*]isoquinolin-4-ona
[*55268-74-1*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 136 ºC a 142 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de praziquantel SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (55:45).

Solução (1): dissolver 40 mg da amostra em *Fase móvel* e diluir para 10 mL com o mesmo solvente, obtendo solução a 4 mg/mL.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Fase móvel*. Diluir 5 mL desta solução para 10 mL com *Fase móvel*, obtendo solução a 20 µg/mL.

Solução (3): solução de praziquantel SQR a 0,2 mg/mL em *Fase móvel*.

Solução (4): dissolver 5 mg de 2-benzoil-1,2,3,6,7,11b-hexaidro- 4*H*-pirazino[2,1-*a*]isoquinolin-4-ona (*impureza A*) SQR em *Solução (3)* e diluir para 5 mL com o mesmo solvente. Diluir 1 mL desta solução para 10 mL com *Fase móvel*, obtendo solução de *impureza A* e de praziquantel a 20 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (4)*. A resolução entre *impureza A* e praziquantel é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Soluções (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, cinco vezes o tempo de retenção do praziquantel e medir as áreas sob os picos. A área sob qualquer pico obtido no cromatograma com a *Solução (1)*, exceto sob o pico principal, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). A área sob não mais que um dos picos secundários obtidos no cromatograma com a *Solução (1)*, exceto sob o pico principal, é maior que 0,4 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos no cromatograma com a *Solução (1)*, exceto sob o pico principal, não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%). Não considerar picos com a área inferior a 0,1 vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 50 °C, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm a 10 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (40:60).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 45 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar com *Fase móvel.*

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de praziquantel SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente com o mesmo solvente, de modo a obter solução a 0,18 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão.* O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico.

PRAZIQUANTEL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{19}H_{24}N_2O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e acetato de etila, como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 30 mg de praziquantel para tubo de centrífuga e adicionar 5 mL de álcool metílico. Agitar por cinco minutos e centrifugar. Utilizar o sobrenadante límpido.

Solução (2): solução a 6 mg/mL de praziquantel SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste. No máximo, 15 minutos.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 0,2% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias das soluções em 263 nm **(5.2.14)**, utilizando o *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da *Solução padrão*, preparada como descrito a seguir.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de praziquantel SQR de modo a obter solução cuja concentração seja L/90 mg/mL, em que L é a quantidade declarada, em miligramas, de praziquantel por comprimido. Transferir 5 mL da solução obtida para balão volumétrico de 50 mL, diluir e completar o volume com *Meio de dissolução.*

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ se dissolvem em 60 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* da monografia de *Praziquantel*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 150 mg de praziquantel para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 3 mL para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

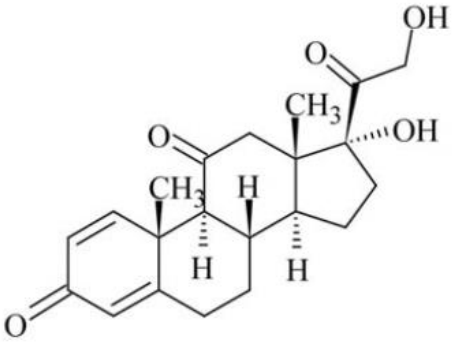
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PREDNISONA
Prednisonum



$C_{21}H_{26}O_5$; 358,43
prednisona; 07341
17,21-Di-hidroxipregna-1,4-dieno-3,11,20-triona
[*53-03-2*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{21}H_{26}O_5$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico, em dioxano e em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +167 a +175. Determinar em solução a 0,5% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **B.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **C**. O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.**, **C.** e **D**.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de prednisona SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos não forem idênticos, dissolver, separadamente, prednisona SQR e amostra em acetona e evaporar até secura. Obter novos espectros com os resíduos.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximo de absorção em 239 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de prednisona SQR. A absorvância em 239 nm é entre 0,405 e 0,435.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando placa de sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de cloreto de metileno, éter etílico, álcool metílico e água (77:15:8:1,2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em mistura de clorofórmio e álcool metílico (9:1).

Solução (2): solução a 1 mg/mL de prednisona SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (9:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar com ácido sulfúrico a 20% (v/v) em álcool etílico. Aquecer a placa a 120 °C por 10 minutos. Resfriar. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). A mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

D. Dissolver cerca de 6 mg da amostra em 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Deixar em repouso por cinco minutos. Desenvolve-se coloração alaranjada. Verter a solução, gota a gota e sob agitação, em 10 mL de água. A cor muda para amarela e, gradativamente, para verde-azulada.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 45 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2,5 mL/minuto.

Solução (1): dissolver 25 mg da amostra em álcool metílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 2 mg de prednisona SQR e 2 mg de prednisolona SQR em álcool metílico e diluir para 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool metílico.

Eluente A: em um balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 100 mL de acetonitrila com 200 mL de álcool metílico e 650 mL de água. Homogeneizar. Ajustar o volume para 1000 mL com água e misturar novamente.

Eluente B: acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0	100	0	estabilizar
0 – 25	100	0	isocrática
25 – 40	100 → 40	0 → 60	gradiente linear
40 – 41	40 → 0	60 → 100	gradiente linear
41 – 46	0	100	isocrática
46 – 47	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
47 – 52	100	0	estabilizar

Equilibrar a coluna por 30 minutos com o *Eluente B,* em fluxo de 2,5 mL/minuto e, em seguida, com *Eluente A,* por cinco minutos. Proceder nas condições de eluição descritas entre 40 e 52 minutos. Ajustar a sensibilidade do sistema para que a altura do pico principal do cromatograma obtido com 20 µL da *Solução (3)* não seja menor que 50% do total da escala completa. Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*. Os tempos de retenção são cerca de 19 minutos para a prednisona e 23 minutos

para a prednisolona. A resolução entre prednisolona e prednisona é, no mínimo, 2,7; se necessário, ajustar a concentração de acetonitrila no *Eluente A*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de álcool metílico como branco, 20 µL da *Solução (1)* e 20 µL da *Solução (3)*. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, a área sob nenhum pico, exceto a área sob o pico principal, é, no máximo, 0,25 vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,25%). A soma das áreas sob todos os picos, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 0,75 vezes a área sob o pico principal com o cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,75%). Descartar qualquer pico obtido na corrida do branco e qualquer pico com área inferior a 0,05 vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,05%).

Água (5.2.20.1). No máximo, 1,0% para a substância anidra e, no máximo, 5,0% para a substância monoidratada.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,1 g de amostra. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 de ultravioleta a 240 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, tetraidrofurano e álcool metílico (69:25:6,2).

Solução de padrão interno: pesar, com exatidão, cerca de 11 mg de acetanilida e dissolver em 33 mL de álcool metílico. Completar o volume para 100 mL com água purificada, de modo a obter uma solução a 110 µg/mL.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 20 mg da amostra e dissolver em 33 mL de álcool metílico. Completar o volume para 100 mL com água purificada de modo a obter uma solução a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução e 5 mL da *Solução padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com mistura de álcool metílico e água (1:2) e homogeneizar, obtendo uma solução de prednisona a 20 µg/mL.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 20 mg de prednisona SQR e dissolver em 33 mL de álcool metílico. Completar o volume para 100 mL com água purificada, de modo a obter uma solução a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução e 5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com mistura de álcool metílico e água (1:2) e homogeneizar, obtendo uma solução de prednisona a 20 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de padrão interno*. A resolução entre prednisona e acetanilida é, no mínimo, 3,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{21}H_{26}O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas para a relação prednisona/acetanilida com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório esteroide.

PREDNISONA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{21}H_{26}O_5$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade de pó equivalente a 20 mg de prednisona com cerca de 100 mL de clorofórmio. Filtrar e evaporar até secura. Secar o resíduo em estufa a 105 °C por três horas. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de prednisona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A cerca de 6 mg do resíduo obtido no método **A.** de *Identificação*, adicionar 2 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por cinco minutos. Desenvolve-se coloração alaranjada. Verter a solução, gota a gota e sob agitação, em 10 mL de água. A cor alaranjada muda primeiramente para amarela e em seguida, gradualmente, para verde-azulada.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 500 mL (para comprimidos contendo 10 mg ou menos de prednisona) ou 900 mL (para comprimidos contendo mais de 10 mg de prednisona).
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 242 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{26}O_5$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a solução de prednisona SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente, mas com adição prévia de álcool etílico, para garantir a solubilização. A quantidade de álcool etílico não deve exceder 5% do volume total.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{21}H_{26}O_5$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 5 mg de prednisona para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 30 mL de álcool etílico. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com álcool etílico até uma concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 239 nm, utilizando o álcool etílico para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{26}O_5$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 420, em 239, em álcool etílico.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Prednisona*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir:

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 20 mg de prednisona para balão volumétrico de 100 mL e acrescentar 5 mL de água. Deixar em banho de ultrassom por um minuto. Adicionar 50 mL de álcool metílico e deixar em banho de ultrassom por mais um minuto. Completar o volume com água purificada e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução e 5 mL da *Solução padrão interno* para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e água (1:2), de modo a obter uma solução de prednisona 20 µg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{26}O_5$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a relação prednisona/acetanilida com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

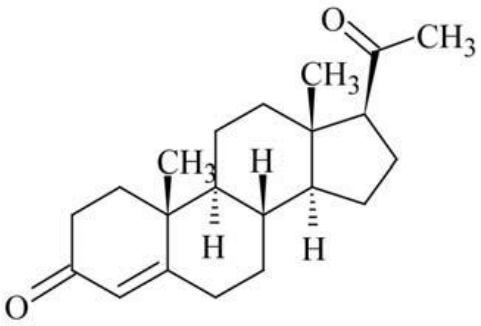
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PROGESTERONA

Progesteronum



$C_{21}H_{30}O_2$; 314,47
progesterona; 07413
Pregn-4-eno-3,20-diona
[*57-83-0*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{21}H_{30}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou ligeiramente amarelado. Estável ao ar.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool etílico e em dioxano, pouco solúvel em óleos vegetais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 126 °C a 131 °C. Apresenta um polimorfo com ponto de fusão em torno de 121 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +175 a +183, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de progesterona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximos e mínimos nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro de solução similar de progesterona SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio e acetato de etila (2:1),

como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,1 g da amostra em álcool etílico e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL de álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 20 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com álcool etílico. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 240 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{21}H_{30}O_2$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

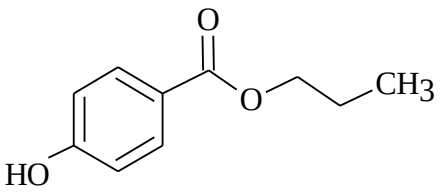
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Progestagênio.

PROPILPARABENO

Propylis parahydroxybenzoas



$C_{10}H_{12}O_3$; 180,20
propilparabeno; 07461
Éster propílico do ácido 4-hidroxibenzoico
[*94-13-3*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{10}H_{12}O_3$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco e cristalino.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool metílico, em álcool etílico e em éter etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 96,0 ºC a 99,0 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de propilparabeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 280 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em álcool etílico, há máximo em 258 nm. A absorvância em 258 nm é entre 0,440 e 0,475.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 10% (p/v) em álcool etílico é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez. A 2 mL da solução descrita em *Aspecto da preparação*, adicionar 3 mL de álcool etílico, 5 mL de água isenta de dióxido de carbono e 0,1 mL de verde de bromocresol SI. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* é necessário para promover a viragem do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e ácido fórmico anidro, acetato de etila e cloreto de metileno (2:10:88), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,1 g da amostra em álcool metílico e diluir com o mesmo solvente para 5 mL.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar sob corrente de ar quente e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 1 g de amostra, transferir para erlenmeyer provido de rolha esmerilhada e adicionar 20 mL de hidróxido de sódio *M* SV. Adaptar um condensador de refluxo e aquecer a 70 °C por uma hora. Resfriar à temperatura ambiente. Titular o excesso de hidróxido de sódio *M* SV com ácido sulfúrico 0,5 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente, continuando a titulação até o segundo ponto de inflexão. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio *M* SV equivale a 180,200 mg de $C_{10}H_{12}O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

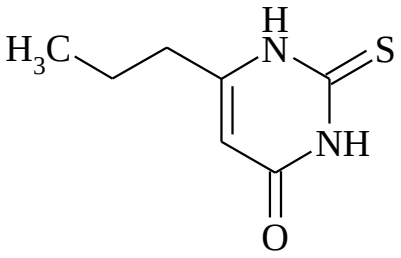
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Conservante.

PROPILTIOURACILA

Propylthiouracilum



$C_7H_{10}N_2OS$; 170,23
propiltiouracila; 07462
3-diidro-6-propil-2-tioxopirimidina-4(1*H*)-ona
[*51-52-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_7H_{10}N_2OS$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções alcalinas.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 217 ºC a 221 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.** *e* **C.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A.** *O teste de identificação* **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** e **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de propiltiouracil SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver cerca de 20 mg da amostra em 8 mL de água de bromo SR e agitar por alguns minutos. Aquecer até que a mistura perca a coloração, resfriar e filtrar. Adicionar, ao filtrado, 2 mL de cloreto de bário a 61 g/L. Um precipitado branco é formado cuja coloração não se torna violeta após a adição de 5 mL de hidróxido de sódio 8,5% (p/v).

C. Examinar os cromatogramas obtidos no teste de *Substâncias relacionadas* sob luz ultravioleta em 254 nm antes de expor a placa ao vapor de iodo. A mancha principal obtida com a *Solução (2)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (3).*

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, com espessura de 250 μm, como suporte, e mistura de

clorofórmio, álcool isopropílico e ácido acético glacial (50:6:0,1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 100 mg de propiltiouracil, precisamente medido, em álcool metílico, e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução (3): dissolver 10 mg de propiltiouracil SQR em álcool metílico e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver 50 mg de tioureia em álcool metílico e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução (5): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Observar sob luz ultravioleta em 254 nm. Expor a placa a vapores de iodo durante 10 minutos. A mancha obtida no cromatograma da *Solução (1)* não é superior em intensidade à correspondente em posição obtida com a *Solução (4)* (0,05%). Qualquer outra mancha obtida no cromatograma da *Solução (1)* além da descrita anteriormente e da principal não possui intensidade maior que a mancha obtida no cromatograma da *Solução (5)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar a 105 °C por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 300 mg da amostra e dissolver em uma mistura de 30 mL hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e 30 mL de água, aquecer até ebulição e agitar a mistura até completa dissolução. Adicionar 50 mL de nitrato de prata 0,1 *M* com agitação e aquecer suavemente durante cinco minutos. Deixar esfriar. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. O volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizado é igual a soma do volume inicialmente adicionado e o volume utilizado na titulação final. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 8,512 mg de $C_7H_{10}N_2OS$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

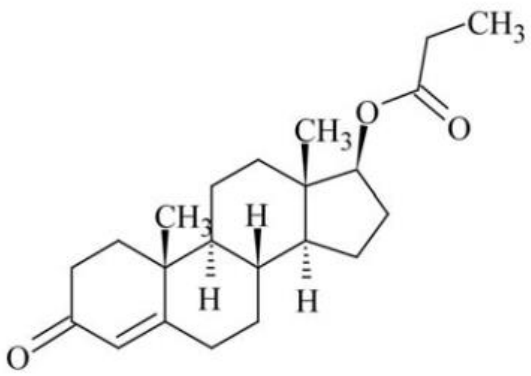
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente antitireoidiano.

PROPIONATO DE TESTOSTERONA

Testosteroni propinas



$C_{22}H_{32}O_3$; 344,49
propionato de testosterona; 08458
(17*β*)-17-(1-Oxopropoxi)androst-4-en-3-ona
[*57-85-2*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{22}H_{32}O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico, solúvel em óleos vegetais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 118 °C a 123 °C.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +83 a +90, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool etílico absoluto.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de propionato de testosterona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em álcool etílico, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de propionato de testosterona SQR. Os valores de absorvância medidos em 241 nm diferem, no máximo, 3,0%.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel HF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio e dietilamina (19:1),

como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 40 mg da amostra em 2 mL de álcool etílico.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e dissolver em álcool etílico absoluto. Completar o volume para 250 mL com o mesmo solvente. Diluir 10 mL da solução para 100 mL com álcool etílico absoluto, de modo a obter solução a 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 240 nm, utilizando álcool etílico absoluto para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{22}H_{32}O_3$ na amostra a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 490, em 240 nm, em álcool etílico absoluto.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

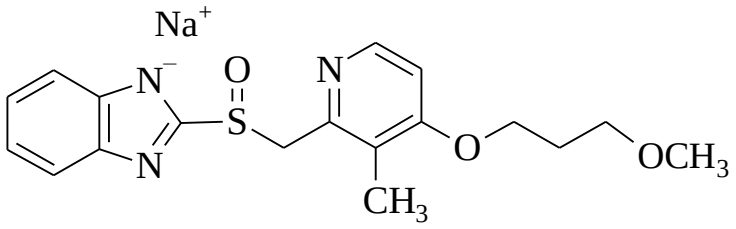
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hormônio androgênico.

RABEPRAZOL SÓDICO

Rabeprazoli natricum



$C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$; 381,43
rabeprazol sódico; 07595
Sal sódico de 2-{[4-(3-metoxipropoxi)-3-metilpiridina-2-il]metilsulfinil}-1H-benzimidazol
[*117976-90-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a levemente amarelo higroscópico.

Solubilidade. Muito solúvel em água e em álcool metílico, facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **B.** pode ser omitido se for realizado o teste **C.** O teste de identificação **C.** pode ser omitido se for realizado o teste **B.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 120 °C, sob pressão reduzida, por três horas, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de rabeprazol sódico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Solubilizar 20 mg da amostra em 2 mL de água. A solução satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 40 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com acetonitrila. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool metílico de modo a obter solução a 40 µg/mL de rabeprazol sódico.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução (1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico do solvente, é, no máximo, 1,5% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,5% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área inferior a 0,05 vezes a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,3 g de amostra. No máximo, 7,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra e dissolver em água com pH previamente ajustado para 10,0 com hidróxido de amônio SR. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 291 nm, utilizando água pH 10,0 para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. 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 octilsilano (5 µm) com base desativada, mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em acetonitrila de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de rabeprazol sódico SQR em acetonitrila de modo a obter solução a 40 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antissecretor.

RABEPRAZOL SÓDICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel 60 F_{254}, como suporte, e mistura de álcool metílico e acetato de etila (10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 10 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de rabeprazol sódico para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de álcool metílico. Levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 20 minutos, completar o volume com álcool metílico, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de rabeprazol sódico SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Expor a vapores de iodo até aparecimento das manchas. As manchas apresentam coloração castanho-amarelado.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Comprimidos com revestimento entérico (gastrorresistentes)*.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Estágio ácido:
Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 120 minutos.

Estágio tampão pH 9,0:
Meio de dissolução: tampão borato pH 9,0, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em acetonitrila, de modo a obter solução a 11 µg/mL de rabeprazol sódico.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 27,5 mg de rabeprazol sódico SQR para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com mistura de acetonitrila e tampão borato pH 9,0 (50:50) e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de acetonitrila e tampão borato pH 9,0 (50:50) e homogeneizar, de modo a obter solução a 11 µg/mL de rabeprazol sódico.

Procedimento: após o teste do *Estágio ácido*, transferir os comprimidos para cubas contendo 900 mL de tampão borato pH 9,0 e realizar o teste do *Estágio tampão pH 9,0*. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar *Solução amostra* e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 85% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 10 comprimidos para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 20 mL de água pH 10,0, previamente ajustado com hidróxido de amônio, e levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 20 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar em papel. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar, obtendo solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico do solvente é, no máximo, 3,0% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 1,0% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área inferior a 0,05 vezes a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 282 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm) com base desativada, mantida à temperatura de 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: transferir 10 comprimidos para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 20 mL de água com pH previamente ajustado para 10,0 com hidróxido de amônio, e levar a banho de ultrassom, à temperatura ambiente, durante 20 minutos.Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e

filtrar em papel. Diluir alíquota da solução límpida resultante, com acetonitrila, até obter solução a 40 µg/mL de rabeprazol sódico.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de rabeprazol sódico SQR em acetonitrila de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

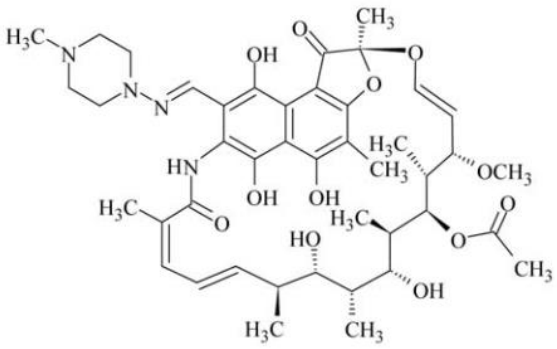
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

RIFAMPICINA
Rifampicinum



$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$; 822,95
rifampicina; 07719
3-[[(4-Metil-1-piperazinil)imino]metil]rifamicina
[*13292-46-1*]

Contém, no mínimo, 97% e, no máximo, 102% de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, de cor castanho-avermelhada a vermelho-acastanhada.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, solúvel em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em pasta à base de parafina líquida, há máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de rifampicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 500 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos em 237 nm, 254 nm, 334 nm e 475 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 334 nm e 475 nm é cerca de 1,75.

C. Suspender cerca de 25 mg da amostra em 25 mL de água purificada. Agitar durante cinco minutos e filtrar. A 5 mL do filtrado, adicionar 1 mL de persulfato de amônio a 10% (p/v) em solução de tampão fosfato pH 7,4 e agitar durante alguns minutos. A solução se modifica de amarelo-alaranjada para vermelho-violeta, sem formação de precipitado.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 6,5. Determinar em 0,1% (p/v) da suspensão da amostra em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato: dissolver 136,1 g de fosfato de potássio monobásico em cerca de 500 mL de água, adicionar 6,3 mL de ácido fosfórico, diluir com água para 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: preparar mistura de água, acetonitrila, *Tampão fosfato*, ácido cítrico *M* e perclorato de sódio 0,5 *M* (510:350:100:20:20), filtrar em filtro de membrana com poros de 0,7 μm ou menos e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Diluente: preparar mistura de água, acetonitrila, fosfato de potássio dibásico *M*, fosfato de potássio monobásico *M* e ácido cítrico *M* (640:250:77:23:10).

Solução (1): transferir cerca de 0,2 g da amostra para um balão volumétrico de 100 mL, dissolver com acetonitrila, diluir e completar o volume. Deixar em banho de ultrassom por cerca de 30 segundos, se necessário, para garantir completa dissolução. Utilizar essa solução em um período máximo de duas horas.

Solução (2): transferir 5 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 50 mL, diluir com o *Diluente*, completar o volume e homogeneizar. Preparar essa solução imediatamente antes da utilização.

Solução (3): transferir 10 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 100 mL, diluir com acetonitrila, completar o volume e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, diluir com o *Diluente*, completar o volume e homogeneizar. Preparar essa diluição final imediatamente antes da utilização.

Solução de resolução: dissolver quantidade previamente pesada de rifampicina SQR e rifampicina quinona SQR em acetonitrila, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL de cada. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, diluir com o *Diluente*, completar o volume e homogeneizar.

Injetar replicatas de 50 μL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para rifampicina quinona e 1,0 para rifampicina. A resolução entre os picos de rifampicina e de rifampicina quinona é, no mínimo, 4,0.

Procedimento: injetar cerca de 50 μL da *Solução (2)* e da *Solução (3)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a percentagem de cada substância relacionada pela fórmula:

$$r_{Ti}/\left(r_D + 0{,}01\sum r_{Ti}\right)$$

em que r_{Ti} é a área sob o pico de cada substância relacionada no cromatograma obtido com a *Solução (2)*, r_D é a área sob o pico da rifampicina no cromatograma obtido com a *Solução (3)* e Σr_{Ti} é a soma das áreas sob todos os picos das substâncias relacionadas, obtidas no cromatograma da *Solução (2)*: no máximo, 1,5% de rifampicina quinona é encontrada; no máximo, 1,0% de qualquer outra substância relacionada é encontrada e um total de, no máximo, 3,5% do total das substâncias relacionadas individuais, além da rifampicina quinona, tendo um tempo de retenção acima de 3,0 em relação ao tempo de retenção da rifampicina, é encontrada.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 80 °C, a uma pressão máxima de 670 Pa, por quatro horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 2 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Dissolver 0,1 g da amostra em álcool metílico e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir 2 mL da solução para 100 mL com tampão fosfato pH 7,4. Medir a absorvância da solução resultante em 475 nm, utilizando tampão fosfato pH 7,4 para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ na amostra, considerando A(1%, 1 cm) = 187, em 475 nm, em tampão fosfato pH 7,4.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e a uma temperatura máxima de 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano (tuberculostático).

RIFAMPICINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio e álcool metílico (90:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 3 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): dissolver uma quantidade de pó, equivalente a cerca de 50 mg de rifampicina, com 5 mL de clorofórmio e filtrar.

Solução (2): solução a 10 mg/mL da amostra em clorofórmio.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir o conteúdo de uma cápsula para balão volumétrico de 100 mL. Lavar o corpo e a tampa da cápsula com mistura de acetonitrila e álcool metílico (1:1) e transferir para o balão volumétrico. Diluir de forma a obter uma solução a 1,5 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom durante cerca de cinco minutos e esfriar à temperatura ambiente. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e agitar. Proceder conforme descrito em *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 475 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de rifampicina SQR na concentração de 0,0032% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 100 mg de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 254 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato: dissolver 136,1 g de fosfato de potássio monobásico em cerca de 500 mL de água, adicionar 6,3 mL de ácido fosfórico, diluir com água para 1000 mL e agitar. Ajustar o pH a 3,1 ± 0,1.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila, *Tampão fosfato*, ácido cítrico *M* e perclorato de sódio 0,5 *M* (510:350:100:20:20). Desgaseificar e filtrar.

Diluente: mistura de água, acetonitrila, fosfato de sódio dibásico *M*, fosfato de potássio monobásico e ácido cítrico *M* (640:250:77:23:10).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 300 mg de rifampicina para um balão volumétrico de 200 mL, adicionar cerca de 180 mL de uma mistura de acetonitrila e álcool metílico (1:1) e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetonitrila e agitar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e agitar.

Solução padrão: pesar,com exatidão, cerca de 37,5 mg de rifampicina SQR, transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com uma mistura de acetonitrila e álcool metílico (1:1). Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetonitrila e agitar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e agitar. Cada mL da *Solução padrão* contém cerca de 0,03 mg de rifampicina SQR.

Solução de resolução: dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de rifampicina quinona SQR em uma mistura de acetonitrila e álcool metílico (1:1), de forma a obter uma solução com concentração de 0,1 mg/mL. Transferir 1,5 mL dessa solução e 5 mL de solução de rifampicina SQR a 0,3 mg/mL para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e agitar.

Injetar replicatas de 50 µL de *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para rifampicina quinona e 1,0 para rifampicina. A resolução entre os picos de rifampicina quinona e da rifampicina é, no mínimo, 4,0. Injetar replicatas de 50 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{21}H_{23}FClNO_2$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

RIFAMPICINA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$.

IDENTIFICAÇÃO

A. A 0,1 g de rifampicina, adicionar 30 mL de água e agitar com duas quantidades de 50 mL de clorofórmio. Secar os extratos combinados com sulfato de sódio anidro, filtrar e evaporar o filtrado seco a uma temperatura que não exceda a 70 °C.No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, após lavagem com 1 mL de éter etílico e secagem a 70 °C, há máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de rifampicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 220 nm a 500 nm, da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento,* há máximos em 237 nm, 254 nm, 334 nm e 475 nm, idênticos aos observados no espectro da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,2 a 4,8. Determinar na suspensão reconstituída conforme indicado no rótulo.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 120 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de 35 volumes de acetonitrila e 65 volumes de uma solução contendo ácido fosfórico a 0,1% (v/v), perclorato de sódio a 1,9 mg/mL, ácido cítrico a 5,9 mg/mL e fosfato de potássio monobásico a 20,9 mg/mL.

Diluente: mistura de solução de ácido cítrico a 210,1 mg/mL, solução de fosfato de potássio monobásico a 136,1 mg/mL, solução de fosfato de potássio dibásico a 174,2 mg/mL, acetonitrila e água (10:23:77:250:640).

Nota: *Preparar as Soluções (1), (2), (3), (4), (5) e (6) imediatamente antes da utilização.*

Solução (1): adicionar 5 mL de água a uma quantidade de suspensão oral contendo 20 mg de rifampicina e extrair com quatro porções sucessivas de 10 mL de cloreto de metileno. Filtrar os extratos combinados e evaporar a seco a uma temperatura que não exceda a 40 °C. Dissolver o resíduo em 10 mL de acetonitrila e diluir 5 mL dessa solução para 50 mL com o *Diluente*. Homogeneizar.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o *Diluente* e homogeneizar.

Solução (3): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de rifampicina quinona SQR em *Diluente*, para obter solução a 0,3 mg/mL. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluente*, obtendo solução a 3 µg/mL.

Solução (4): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de rifampicina N-óxido SQR em *Diuente*, para obter solução a 0,2 mg/mL. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluente*, obtendo uma solução a 2 µg/mL.

Solução (5): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de 3-formilrifamicina SQR em *Diluente*, para obter solução a 0,1 mg/mL**.** Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluente*, obtendo uma solução a 10 µg/mL.

Solução (6): transferir 10 mL da *Solução (3)* para erlenmeyer, adicionar 5 mL do *Diluente* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para erlenmeyer, adicionar 5 mL de *Solução (2)* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (6)*. Ajustar a sensibilidade do detector, de forma que a altura dos dois picos principais não seja menor que a metade da escala. A resolução entre os picos de rifampicina e rifampicina quinona é, no mínimo, 4,0. Se necessário, ajustar a concentração de acetonitrila na *Fase móvel*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (2)*, *Solução (3)*, *Solução (4)* e da *Solução (5)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Injetar 20 µL da *Solução (1)* e desenvolver o cromatograma por, pelo menos, três vezes o tempo de retenção do pico relativo à rifampicina. A área sob o pico correspondente à rifampicina quinona não é superior à área sob o pico do cromatograma obtido com a *Solução (3)* (1,5%). A área sob o pico correspondente à rifampicina N-óxido não é superior à área sob o pico do cromatograma obtido com a *Solução (4)* (1,0%); a área sob o pico correspondente à 3-formilrifamicina não é superior à área sob o pico do cromatograma obtido com a *Solução (5)* (5,0%) e a área sob qualquer pico secundário não é superior à área sob o pico do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (1,0%). Desconsiderar qualquer pico com tempo de retenção menor que o pico da rifampicina quinona.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Diluir volume da suspensão oral equivalente a 0,4 g de rifampicina em 500 mL de álcool metílico e homogeneizar. Diluir 2 mL dessa solução em 100 mL de tampão fosfato pH 7,0 e medir a absorvância em 475 nm. Calcular o teor de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ na amostra considerando A(1%, 1 cm) = 187, em 475 nm, em tampão fosfato pH 7,0. Calcular a quantidade de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm e coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm).

Tampão fosfato: dissolver 136,1 g de fosfato de potássio monobásico em 500 mL de água, adicionar 6,3 mL de ácido fosfórico e homogeneizar. Completar o volume com água para 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila, *Tampão fosfato*, ácido cítrico *M* e perclorato de sódio 0,5 *M* (500:360:100:20:20). Filtrar em membrana com poros de 0,7 μm ou menores e desgaseificar.

Diluente: preparar mistura de acetonitrila e água (1:1).

Solução amostra: agitar o frasco contendo a amostra e imediatamente transferir 5 mL da suspensão oral, isenta de bolhas, para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de rifampicina SQR no *Diluente*, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Deixar em banho de ultrassom durante cerca de 30 segundos, se necessário, para dissolver. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluente* e homogeneizar. Utilizar essa preparação em, no máximo, uma hora.

Solução de resolução: dissolver quantidades adequadas de rifampicina SQR e de rifampicina quinona SQR em acetonitrila, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL cada. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, diluir e completar o volume com mistura de água, acetonitrila, fosfato de potássio dibásico *M*, fosfato de potássio monobásico *M* e ácido cítrico *M* (640:250:77:23:10).. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para a rifampicina quinona e 1,0 para a rifampicina. A resolução entre os picos de rifampicina e de rifampicina quinona é, no mínimo, 4,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ na suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

RITONAVIR CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 0,7% (p/v), 900 mL.
Aparelhagem: pás, 25 rpm. Utilizar pás revestidas de material inerte.
Tempos: 60 e 120 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir até concentração adequada. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 40% (Q) da quantidade declarada de $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$ se dissolvem em 60 minutos e, no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$ se dissolvem em 120 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 de ultravioleta a 210 nm; coluna de 125 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (67:23).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Transferir, quantitativamente, o equivalente a 20 mg de ritonavir para balão volumétrico de 100 mL, acrescentar 70 mL de *Fase móvel*, agitar e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar, obtendo solução a 0,2 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de ritonavir SQR em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,2 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

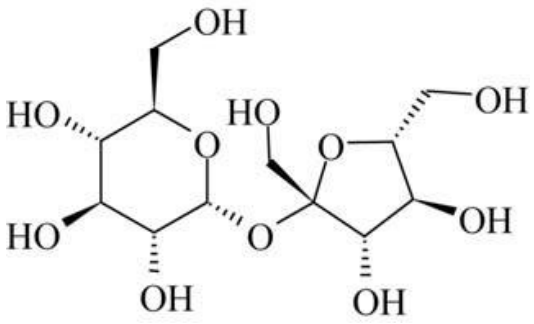
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SACAROSE
Saccharum



$C_{12}H_{22}O_{11}$; 342,30
sacarose; 07854
β-D-Fructofuranosil-*α*-D-glicopiranosídeo
[*57-50-1*]

Açúcar obtido de *Saccharum officinarum* L. (POACEAE), *Beta vulgaris* L. (CHENOPODIACEAE) e outras fontes.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou massa cristalina branca ou incolor, inodoro e doce.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico a 70% (v/v), insolúvel em clorofórmio e em éter etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: no mínimo, +65,9 em relação à substância dessecada a 105 °C por duas horas. Determinar em solução aquosa a 26% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de água, álcool metílico, ácido acético glacial e cloreto de etileno (10:15:25:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções descritas a seguir, secando cada ponto de aplicação.

Solução (1): dissolver 10 mg da amostra em mistura de água e álcool metílico (2:3). Completar o volume para 20 mL com a mesma mistura de solventes.

Solução (2): dissolver 10 mg de sacarose SQR em mistura de água e álcool metílico (2:3). Completar o volume para 20 mL com a mesma mistura de solventes.

Solução (3): dissolver 10 mg de glicose SQR, lactose SQR, frutose SQR e de sacarose SQR em mistura de água e álcool metílico (2:3) e completar para 20 mL com a mesma mistura de solventes.

Desenvolver o cromatograma até que a frente da fase móvel ascenda 17 cm acima da linha de aplicação. Remover a placa e secar em ar quente. Nebulizar com solução de timol a 0,5% (p/v) em mistura de álcool etílico e ácido sulfúrico (95:5). Aquecer a placa a 130 °C por 10 minutos. A mancha

principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e tamanho àquela obtida com a *Solução (2)*. O cromatograma da *Solução (3)* deve apresentar quatro manchas claramente separadas entre si.

B. Diluir 1 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 100 mL com água. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de solução de hidróxido de sódio 2 *M* recém-preparada e 0,15 mL de solução de sulfato cúprico a 10% (p/v) em água. A preparação resultante é azul e límpida, permanecendo inalterada sob aquecimento. À preparação quente, adicionar 4 mL de solução de ácido clorídrico SR, aquecer até fervura e adicionar 4 mL da solução de hidróxido de sódio 2 *M*. Forma-se imediatamente precipitado de coloração laranja.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 150 g da amostra em água destilada isenta de dióxido de carbono e completar o volume para 300 mL. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)**, inodora e não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC F* diluída em água na proporção 1:4 **(5.2.12)**.

Alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 0,3 mL de fenolftaleína SI. A preparação é incolor. No máximo, 0,3 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* são necessários para que ocorra viragem do indicador para róseo.

Dextrinas. A 2 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 8 mL de água, 0,05 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 0,05 mL de solução de iodo 0,1 *M*. A preparação permanece amarela.

Glicose e açúcar invertido. Dissolver 20 g da amostra em água, completar o volume para 100 mL e filtrar, se necessário. Transferir 50 mL do líquido límpido para béquer de 250 mL, adicionar 50 mL de tartarato cúprico alcalino SR, cobrir o béquer com vidro de relógio e aquecer a mistura, de modo a ferver em aproximadamente quatro minutos. Continuar a fervura por exatamente dois minutos. Adicionar, de uma vez, 100 mL de água fria recentemente fervida e, imediatamente, recolher o precipitado de óxido cuproso em funil tarado, com placa filtrante de poro médio. Lavar o resíduo do filtro com água quente, seguida de 10 mL de álcool etílico e, finalmente, de 10 mL de éter etílico. Secar a 105 °C por uma hora. O peso de óxido cuproso é de, no máximo, 0,112 g.

Substâncias coloridas. Filtrar 100 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, utilizando placa de vidro com poro médio de 1 μm e diâmetro de 24 mm. O filtro não se cora de azul. A 100 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, contida em tubo de ensaio, adicionar 1 mL de ácido hipofosforoso diluído. Tampar o tubo. Nenhum odor desagradável é percebido dentro de uma hora. Quando examinada sob luz ultravioleta (365 nm), a preparação obtida em *Aspecto da preparação* não apresenta fluorescência mais intensa que a solução de referência, contendo 0,4 ppm de sulfato de quinina em ácido sulfúrico 0,005 *M*.

Bário. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, adicionar 1 mL de ácido sulfúrico 4 *M*. Após uma hora, qualquer opalescência desenvolvida na preparação não é mais intensa que a da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, diluída em água destilada na proporção de 10:1.

Limite de sulfitos. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Dissolver 5 g da amostra em 40 mL de água, adicionar 2 mL de hidróxido de sódio *M* e completar para 50 mL com água - utilizar como *Solução amostra*. Separadamente, dissolver 76 mg de metabissulfito de sódio e completar para 50 mL com água; pipetar 5 mL dessa solução e completar com água para 100 mL. Pipetar 3 mL dessa solução e completar com água para 100 mL - utilizar essa solução como padrão. Separadamente, pipetar 10 mL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 3 *M*, 2 mL de fucsina descorada SR e 2 mL de solução de

formaldeído, deixando em repouso por 30 minutos. Preparar branco em paralelo, utilizando 10 mL de água e os mesmos reagentes, nas mesmas quantidades. Medir as absorvâncias das soluções em 583 nm. A absorvância da *Solução amostra* não é superior à da *Solução padrão*. No máximo, 0,0015% (15 ppm) de SO_2. Se a *Solução padrão* não exibir coloração de vermelho-púrpura a azul-púrpura, o resultado do teste é inválido.

Metais pesados (5.3.2.3). No máximo, 0,0005% (5 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Dissolver 5 g da amostra em 5 mL de água, adicionar 2 mL de ácido sulfúrico, evaporar até a secura e incinerar até peso constante. No máximo, 0,02%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 recipientes herméticos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

CATEGORIA

Agente de revestimento; diluente para cápsulas e comprimidos; excipiente para xaropes.

SAIS PARA REIDRATAÇÃO ORAL

Sais para reidratação oral são constituídos por uma mistura seca de cloreto de sódio, bicarbonato de sódio e glicose. Alternativamente, o bicarbonato de sódio pode ser substituído pelo citrato de sódio (anidro ou di-hidratado). Pode conter glicose monoidratada no lugar da forma anidra, desde que o bicarbonato de sódio ou o citrato de sódio estejam empacotados separadamente, acompanhando o conteúdo principal. Possui sabor característico.

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% de sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-) ou citrato ($C_6H_5O_7^{3-}$), em relação à quantidade indicada de cloreto de sódio, cloreto de potássio e bicarbonato de sódio [ou citrato de sódio (anidro ou di-hidratado)].

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de glicose ($C_6H_{12}O_6$) ou de glicose monoidratada ($C_6H_{12}O_6.H_2O$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1)**.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

D. Satisfaz às reações do íon bicarbonato, se este estiver presente **(5.3.1.1)**.

E. Satisfaz às reações do íon citrato, se este estiver presente **(5.3.1.1)**. Utilizar três a cinco gotas da solução reconstituída, conforme indicado no rótulo, e 20 mL de anidrido acético-piridina SR.

F. Adicionar algumas gotas da solução reconstituída, conforme indicado no rótulo, em 5 mL de tartarato cúprico alcalino SR a quente. Produz-se grande quantidade de precipitado vermelho, de óxido cuproso.

G. Quando aquecida, a mistura funde-se, expande-se e carboniza-se, produzindo odor de açúcar queimado.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 50 °C, até peso constante. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Glicose.

Pesar, com exatidão, porção da amostra equivalente a cerca de 20 g de glicose, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 50 mL dessa solução para balão

volumétrico de 100 mL. Adicionar 0,2 mL de hidróxido de amônio 6 *M* e completar o volume com água. Se a preparação estiver turva, filtrar em papel de filtro. Se não for suficiente, adicionar carvão ativado *mesh* ASTM (20-35) de 0,5 mm a 0,75 mm, filtrar novamente em papel de filtro e, finalmente, filtrar em membrana de 0,45 μm. Determinar a rotação óptica específica **(5.2.8)** a 25 °C. Calcular a quantidade, em gramas, de glicose ($C_6H_{12}O_6$) no sal para reidratação oral, considerando 52,7 como a rotação óptica específica a 25 °C. Quando o rótulo indicar glicose monoidratada ($C_6H_{12}O_6.H_2O$), considerar 47,9 como a rotação óptica específica a 25 °C.

Sódio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1.1)**, utilizar o *Método I*. Empregar as seguintes condições: chama ar-acetileno e comprimento de onda 589,6 nm. Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra, equivalente a cerca de 25 mg de sódio, em 50 mL de água. Diluir, em seguida, por um fator de 500 vezes com água. Preparar a solução estoque de padrão de sódio a 1 g/L, em água, utilizando cloreto de sódio (NaCl) grau analítico. Construir a curva analítica com as soluções de padrão de sódio nas seguintes concentrações: 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, 2,0 mg/L e 2,5 mg/L. Preparar as soluções padrão por diluição sequencial em água. Adicionar, às soluções padrão e à solução amostra, quantidade equivalente a 0,5% (v/v) de uma solução de cloreto de césio a 10 g/L (CsCl).

Potássio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1.1)**, utilizar o *Método I*. Empregar as seguintes condições: chama ar-acetileno e comprimento de onda 769,9 nm. Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra, equivalente a cerca de 25 mg de potássio, em 50 mL de água. Diluir, em seguida, por um fator de 500 vezes com água. Preparar a solução estoque de padrão de potássio a 1 g/L, em água, utilizando cloreto de potássio (KCl) grau analítico. Construir a curva analítica com as soluções de padrão de potássio nas seguintes concentrações: 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, 2,0 mg/L e 2,5 mg/L. Preparar as soluções padrão por diluição sequencial em água. Adicionar, às soluções padrão e à solução amostra, quantidade equivalente a 0,5% (v/v) de uma solução de cloreto de césio a 10 g/L (CsCl).

Bicarbonato (se presente).

Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra, equivalente a cerca de 0,1 g de bicarbonato (HCO_3^-) (considerar que cada miligrama de bicarbonato de sódio equivale a 0,726 mg de HCO_3^-) em 100 mL de água. Adicionar três gotas de alaranjado de metila SI e titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV equivale a 6,101 mg de bicarbonato (HCO_3^-).

Cloreto.

Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra, equivalente a cerca de 55 mg de cloreto (Cl^-) (considerar que cada miligrama de cloreto de potássio e cloreto de sódio equivale, respectivamente, a 0,476 mg e 0,607 mg de Cl^-), transferir para béquer de 250 mL, adicionar 100 mL de água e 10 mL de ácido nítrico *M*. Agitar até a solubilização e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente, utilizando eletrodo prata-cloreto de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 3,545 mg de cloreto.

Citrato (se presente).

Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra, equivalente a 0,1 g de citrato ($C_6H_5O_7^{3-}$), em 80 mL de ácido acético glacial. Aquecer até cerca de 50 °C, esfriar, diluir para 100 mL com ácido

acético glacial e logo em seguida deixar em repouso por 10 minutos. Titular potenciometricamente 20 mL dessa solução com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 6,303 mg de citrato ($C_6H_5O_7^{3-}$). Cada mg de citrato de sódio equivale a 0,643 mg de citrato ($C_6H_5O_7^{3-}$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

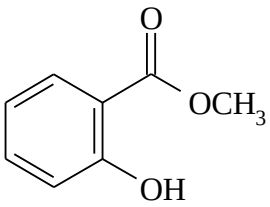
Em recipientes bem fechados e em temperaturas inferiores a 30 °C. Os componentes bicarbonato de sódio e citrato de sódio podem ser omitidos da mistura e embalados separadamente, acompanhando o conteúdo principal.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SALICILATO DE METILA

Methylis salicylas



$C_8H_8O_3$; 152,15
salicilato de metila; 00344
2-Hidroxibenzoato de metila
[*119-36-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $C_8H_8O_3$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido incolor, levemente amarelado, de odor característico.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, miscível com álcool etílico, com clorofórmio, com ácido acético glacial, com ácidos graxos e com óleos voláteis.

Constantes físico-químicas.

Densidade relativa **(5.2.5)**: 1,180 a 1,186.

Índice de refração **(5.2.6)**: 1,535 a 1,538.

Faixa de ebulição **(5.2.3)**: 221 °C a 225 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. Aquecer durante cinco minutos, em banho-maria, mistura de 0,25 mL da amostra e 2 mL de hidróxido de sódio SR. Adicionar 3 mL de ácido sulfúrico a 5,5% (v/v). Produz-se precipitado branco cristalino. Filtrar, lavar o resíduo com água e dessecar a 105 °C. O resíduo obtido funde **(5.2.2)** entre 156 °C e 161 °C.

B. Misturar uma gota da amostra com 5 mL de água. Adicionar uma gota de cloreto férrico SR. Desenvolve-se coloração violeta.

C. Aquecer algumas gotas da amostra com 5 mL de sulfato cúprico SR. Desenvolve-se coloração verde.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Adicionar 10 mL de álcool etílico a 2 mL da amostra. A preparação é límpida **(5.2.25)** e não mais corada do que a *Solução de referência* **(5.2.12)** descrita a seguir.

Solução de referência: misturar 2,5 mL da *Solução base de cloreto férrico*, 0,6 mL da *Solução base de cloreto de cobalto II* e 7 mL de ácido clorídrico a 1% (v/v). Diluir 2,5 mL dessa solução para 100 mL utilizando ácido clorídrico a 1% (v/v).

Acidez. Dissolver 5 g da amostra em 50 mL de álcool etílico, previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando verde de bromocresol SI até coloração azul. No máximo, 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV são necessários para restaurar a coloração azul.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 25 mL de álcool etílico. Adicionar 0,05 mL de vermelho de fenol SI e neutralizar com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. À solução neutralizada, adicionar 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV. Aquecer sob refluxo em banho-maria durante 30 minutos e resfriar. Titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Calcular o volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV gasto na saponificação. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. A diferença entre as titulações representa a quantidade de hidróxido de sódio consumida na saponificação. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV consumido equivale a 15,215 mg de $C_8H_8O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo da luz, hermeticamente fechado ao abrigo do calor.

ROTULAGEM

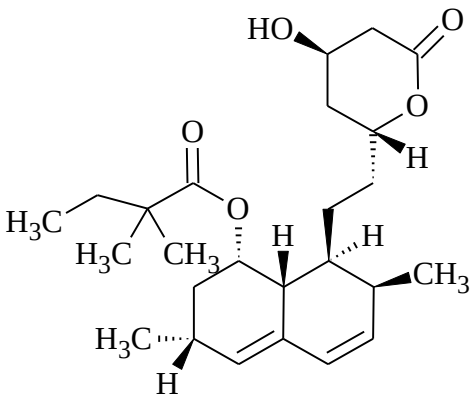
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico e antirreumático.

SINVASTATINA

Simvastatinum



$C_{25}H_{38}O_5$; 418,57
sinvastatina; 08016
2,2-Dimetilbutanoato de (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-[2-[(2R,4R)-4-hidroxi-6-oxotetra-hidro-2H-pirano-2-il]etil-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexa-hidronaftaleno-1-ilo
[*79902-63-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{25}H_{38}O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: entre +285 a +298. Determinar em solução a 0,5% (p/v) em acetonitrila.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da sinvastatina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento. Procedimento:* injetar, separadamente, 5 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos obtidos. Identificar as impurezas especificadas na tabela a seguir. Medir a área sob todos os picos e calcular o percentual de cada impureza e do total de impurezas de sinvastatina. Desconsiderar os picos com áreas inferiores a 0,05% da área sob o pico principal.

Composto relacionado	***Tempo de retenção relativo***	***Limite (%)***
hidroxiácido de sinvastatina	0,45	0,4
epilovastatina e lovastatina	0,60	1,0
metilenosinvastatina	0,80	0,4
sinvastatina	1,00	-
acetilsinvastatina	2,38	0,4
anidrosinvastatina	2,42	0,4
dímero de Sinvastatina	3,80	0,4
outras impurezas individuais	-	0,1
impurezas totais exceto lovastatina e epilovastatina	-	1,0

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g de amostra, em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 238 nm; coluna de 33 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 3 mL/minuto.

Nota: *As soluções de sinvastatina são estáveis por três dias quando armazenadas em até 4 °C. Sem refrigeração, elas devem ser injetadas imediatamente após a preparação.*

Solução tampão: dissolver 1,4 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH em 4,0 ± 0,1 com ácido fosfórico R.

Diluente: mistura de acetonitrila e *Solução tampão* (3:2).

Ácido fosfórico diluído: transferir 1 mL de ácido fosfórico concentrado para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Eluente A: mistura de acetonitrila e *Ácido fosfórico diluído* (50:50).

Eluente B: transferir 1 mL de ácido fosfórico concentrado para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***

0 - 4,5	100	0	isocrática
4,5 - 4,6	100 → 95	0 → 5	gradiente linear
4,6 - 8,0	95 → 25	5 → 75	gradiente linear
8,0 - 11,5	25	75	gradiente linear
11,5 - 11,6	25 → 100	75 → 0	isocrática
11,6 - 13,0	100	0	isocrática

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 75 mg de sinvastatina para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em cerca de 30 mL de *Diluente*, completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sinvastatina SQR em *Diluente* de modo a obter solução a 1,5 mg/mL.

Solução de resolução: obter uma solução a 1,5 mg/mL de sinvastatina SQR e de lovastatina SQR a 0,015 mg/mL em *Diluente.*

Injetar replicatas de 5 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para lovastatina e 1,0 para sinvastatina. A resolução entre os picos de sinvastatina e lovastatina é, no mínimo, 2,0. Injetar replicatas de 5 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{25}H_{38}O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados, sob atmosfera de nitrogênio ou sob refrigeração, e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hipolipemiante.

SINVASTATINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{25}H_{38}O_5$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida em *Doseamento,* corresponde àquele da *Solução padrão.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Pesar individualmente cada cápsula, transferir o conteúdo para balão volumétrico de 50 mL e pesar novamente. Adicionar 25 mL de álcool metílico. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*, a partir de "Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos...".

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 0,5% (p/v) em solução aquosa de fosfato de sódio monobásico 0,01 *M*, 900 mL, pH 7,0.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em meio de dissolução até concentração adequada e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ dissolvida no meio, comparando as áreas obtidas com a da solução de sinvastatina SQR a 22,2 μg/mL, preparada com mesmo diluente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{25}H_{38}O_5$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 238 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm), mantida à 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: álcool metílico e ácido fosfórico 0,1% (v/v) (80:20).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas e remover o conteúdo e pesá-las novamente. Transferir quantidade, pesada com exatidão, do pó do conteúdo das cápsulas para balão volumétrico de capacidade adequada, adicionar álcool metílico até cerca de 70% da capacidade total do balão volumétrico e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e centrifugar por quatro minutos a 4000 rpm. Diluir volume adequado do sobrenadante com acetonitrila de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sinvastatina SQR em álcool metílico de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SINVASTATINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{25}H_{38}O_5$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Pesar, individualmente, e transferir cada comprimido para balão volumétrico de 50 mL, adicionar, no máximo, 2 mL de água (no máximo, 4% da capacidade do balão volumétrico). Agitar até a desintegração do comprimido. Adicionar 35 mL de álcool metílico, deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Centrifugar por quatro minutos a 4000 rpm. Diluir volume adequado do sobrenadante até concentração 0,0008% (p/v), utilizando álcool metílico como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Obter o espectro em segunda derivada e medir a amplitude máxima das soluções em 247 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Alternativamente, obter o espectro na faixa de 200 nm a 300 nm, registrar as absorvâncias com incrementos de 1 nm. Calcular a derivada em segunda ordem e medir a absorvância em 247 nm. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: solução contendo lauril sulfato de sódio a 0,5% (p/v) e fosfato de sódio monobásico 0,01 *M*, preparada da seguinte maneira: dissolver 30 g de lauril sulfato de sódio e 8,28 g de fosfato de sódio monobásico em 6000 mL de água e ajustar o pH para 7,0 com solução de hidróxido de sódio 50% (p/v), 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com o meio de dissolução, até concentração adequada. Obter o espectro em segunda derivada e medir a amplitude máxima das soluções em 248 nm, utilizando meio de dissolução para ajuste do zero. Alternativamente, obter o espectro na faixa de 200 nm a 300 nm, registrar as absorvâncias com incrementos de 1 nm. Calcular a derivada em segunda ordem e medir a absorvância em 248 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de sinvastatina SQR na concentração 0,0008% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{25}H_{38}O_5$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14).** Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó para balão volumétrico de capacidade adequada, adicionar álcool metílico até cerca de 70% da capacidade total o balão volumétrico e deixar em banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Centrifugar por quatro minutos a 4000 rpm. Diluir volume adequado do sobrenadante até concentração de 0,0008% (p/v), utilizando álcool metílico como solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Obter o espectro em segunda derivada e medir a amplitude máxima das soluções em 247 nm, utilizando álcool metílico para ajuste do zero. Alternativamente, obter o espectro na faixa de 200 nm a 300 nm, registrar as absorvâncias com incrementos de 1 nm. Calcular a derivada em segunda ordem e medir a absorvância em 247 nm. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 238 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 30 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e ácido fosfórico 0,1% (v/v) (65:35).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó para balão volumétrico de capacidade adequada, adicionar acetonitrila até cerca de 70% da capacidade total do balão volumétrico e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e centrifugar por quatro minutos a 4000 rpm. Diluir volume adequado do sobrenadante até concentração de 40 µg/mL, utilizando acetonitrila como solvente.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sinvastatina SQR em acetonitrila de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SOLUÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE ÓRGÃOS

Solutiones ad conservationem partium corporis

As soluções para conservação de órgãos são preparações aquosas e estéreis utilizadas para a conservação, proteção e/ou perfusão de órgãos de mamíferos destinados aos transplantes.

Contêm eletrólitos, habitualmente numa concentração próxima da composição eletrolítica intracelular.

Podem conter carboidratos (como glicose ou manitol); aminoácidos; agentes complexantes do cálcio (como citratos ou fosfatos); hidrocoloides (como o amido ou derivados da gelatina); bem como outras substâncias auxiliares destinadas, por exemplo, a tornar a preparação isotônica com o soro sanguíneo; a ajustar ou estabilizar o pH, ou a impedir a degradação dos componentes; essas substâncias auxiliares não prejudicam a ação desejada para a preparação e, nas concentrações escolhidas, não têm efeito tóxico nem provocam irritação local anormal. As soluções para conservação de órgãos podem, igualmente, conter princípios ativos ou podem ser-lhes adicionados princípios ativos imediatamente antes do emprego.

Examinadas em condições apropriadas de visibilidade, as soluções para conservação de órgãos são praticamente isentas de partículas.

As soluções para conservação de órgãos podem igualmente apresentar-se na forma de soluções concentradas a diluir, imediatamente, antes do emprego, com um líquido apropriado até um volume prescrito. Uma vez diluídas, essas soluções satisfazem às exigências estabelecidas para as soluções para a conservação de órgãos.

São preparadas a partir de produtos e por métodos que asseguram a esterilidade; impedem a introdução de contaminantes e o crescimento de micro-organismos; recomendações a esse respeito são fornecidas no texto *Produtos estéreis* **(8.1)**.

Salvo exceção justificada e autorizada, são preparadas com *Água para injetáveis* e não contêm conservantes antimicrobianos.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0. Efetuar o ensaio à temperatura ambiente.

Osmolalidade (5.2.28). Entre 250 e 380 mosmol/kg.

ENSAIOS DE PUREZA

Hidroximetilfurfural. Se a amostra contiver glicose, satisfaz ao ensaio do hidroximetilfurfural. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da solução contendo equivalente a 25 mg de glicose para recipiente adequado. Adicionar 5,0 mL de solução reagente de *p*-toluidina a 100 g/L em álcool isopropílico contendo 10% v/v de ácido acético glacial e, em seguida, 1,0 mL de solução reagente de ácido barbitúrico a 5 g/L. Deixar a mistura em repouso durante dois a três minutos. A absorvância em 550 nm não é superior a de um padrão, preparado simultaneamente e nas mesmas condições, substituindo a amostra pelo mesmo volume de uma solução reagente contendo 10 μg de hidroximetilfurfural.

Contaminação por partículas (5.1.7.1). Efetuar o ensaio das partículas sub-visíveis em 50 mL da amostra. A solução contém, no máximo, por mililitro, 50 partículas de diâmetro superior a 10 μm e

cinco partículas de diâmetro superior a 25 μm. Os produtos com menção no rótulo que são utilizados com um filtro terminal estão isentos desses requisitos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,5 UE/mL de amostra.

Nota: *as soluções às quais não for possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o teste adicional a seguir.*

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Salvo exceção justificada e autorizada, injetar 10 mL/kg de massa do coelho.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

As soluções para conservação de órgãos são acondicionadas em *Recipientes para medicamentos e correlatos* **(6)**. A vedação desses recipientes é assegurada por meios apropriados. As tampas asseguram a vedação; impedem a penetração de micro-organismos e de qualquer outro agente de contaminação e possibilitam, habitualmente, sem serem deslocadas, o recolhimento da totalidade ou de parte do conteúdo da embalagem. Na matéria plástica ou elastômero que constitui esse fecho, há uma resistência e uma elasticidade adaptadas à penetração de uma agulha, não liberando, tanto quanto possível, fragmentos.

As soluções para conservação de órgãos devem ser resfriadas antes do emprego a uma temperatura inferior à temperatura ambiente (normalmente entre 2 ºC e 6 °C) de modo a baixar a temperatura do órgão e reduzir o seu metabolismo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo deve constar que a solução não deve ser utilizada por via injetável; a fórmula da solução para conservação de órgãos deve ser expressa em gramas por litro e em milimols por litro; o volume nominal da solução para conservação de órgãos contido no recipiente; a osmolalidade, expressa em miliosmols por quilograma; que as quantidades não utilizadas da solução pronta para usar, da solução concentrada ou da solução diluída devem ser desprezadas; as condições de conservação e, nos casos apropriados, que a solução deve ser utilizada com um filtro terminal. No caso de uma solução concentrada, indicar no rótulo que a solução deve ser diluída imediatamente antes do emprego, utilizando um líquido apropriado.

SOLUÇÕES PARA DIÁLISE PERITONEAL

Solutiones ad peritonealem dialysim

As soluções para diálise peritoneal são preparações contendo eletrólitos com concentração próxima da composição eletrolítica do plasma. Elas contêm glicose em concentrações variadas ou outros agentes osmóticos adequados.

Devem ser fornecidas em recipientes de material plástico, rígido ou semirrígido; recipientes de plástico flexível equipado com dispositivo de conexão especial (contendo um volume inferior à sua capacidade nominal e em sistema fechado) ou recipientes de vidro.

Os recipientes fabricados de material plástico e suas tampas satisfazem às exigências para *Recipientes Plásticos* **(6.2)** e *Tampas de Elastômero* **(6.2.2)**.

Várias formulações podem ser usadas. As concentrações dos componentes por litro de solução situam-se geralmente nos limites relacionados na **Tabela 1.** Nesta tabela também estão descritos os limites de especificação para cada um dos componentes, baseados nos valores rotulados.

Tabela 1 – Concentração dos componentes por litro de solução e limites de especificação.

Componentes da solução	***Concentração em mmol/L***	***Concentração em mEq/L***	***Limite de especificação (%)***
Sódio	125-150	125-150	97,5 a 102,5
Potássio	0-4,5	0-4,5	95,0 a 105,0
Cálcio	0-2,5	0-5,0	95,0 a 105,0
Magnésio	0,25-1,5	0,50-3,0	95,0 a 105,0
Acetato, lactato ou bicarbonato	30-60	30-60	95,0 a 105,0
Cloreto	90-120	90-120	95,0 a 105,0
Glicose	25-250		95,0 a 105,0

Quando o bicarbonato está presente, a solução de bicarbonato de sódio é fornecida num compartimento ou recipiente separado e é adicionada à solução de eletrólito imediatamente antes da utilização.

A menos que justificado e autorizado, antioxidantes como sais de metabissulfito não são adicionados às soluções.

IDENTIFICAÇÃO

Segundo a sua composição, a amostra satisfaz às seguintes reações de identificação:

A. Potássio: satisfaz à reação 2 **(5.3.1.1)**.

B. Cálcio: a 0,2 mL da solução prescrita, adicionar 0,5 mL de uma solução 2 g/L de glioxal-hidroxianil em álcool etílico a 96% SR, 0,2 mL de hidróxido de sódio diluído SR e 0,2 mL de solução de carbonato de sódio SR. Agitar com 1 a 2 mL de clorofórmio e adicionar 1 a 2 mL de água. A fase de clorofórmio torna-se avermelhada.

C. Sódio: utilizar 0,5 mL da solução. Adicionar 1,5 mL de reagente metoxifenilacético e resfriar em água gelada por 30 minutos. Um precipitado cristalino branco volumoso é formado. Colocar em água a 20 ºC e agitar por cinco minutos. O precipitado não desaparece. Adicionar 1 mL de amônia SR 6

M. O precipitado dissolve-se completamente. Adicionar 1 mL de solução de carbonato de amônio SR. Não se forma nenhum precipitado.

D. Cloreto: satisfaz à reação 1 **(5.3.1.1)**.

E. Acetato: em um tubo de ensaio com rolha e um tubo curvo, colocar 5 mL da amostra e 1 mL de ácido clorídrico; aquecer e recolher alguns mililitros do destilado. A 3 mL do destilado, adicionar, sucessivamente, 0,25 mL de solução de nitrato de lantânio; 0,1 mL de iodo 0,05 *M* e 0,05 mL de amônia SR. Aquecer, cuidadosamente, à ebulição. Em poucos minutos aparece um precipitado azul ou uma coloração azul escura.

F. Lactato e bicarbonato: a identificação é realizada em conjunto com o *Doseamento*.

G. Magnésio: a 0,1 mL de amarelo titan SI adicionar 10 mL de água, 2 mL da amostra e 1 mL de hidróxido de sódio *M*. Desenvolve-se coloração rósea.

H. Glicose: a 5 mL da amostra, adicionar 2 mL de solução diluída de hidróxido de sódio e 0,05 mL de solução de sulfato de cobre. A preparação fica azul e límpida. Aquecer à ebulição; forma-se um abundante precipitado vermelho.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. A amostra é límpida **(5.2.25)** e não mais corada que a solução de referência A_4, preparada como descrito a seguir.

Solução de referência A₄: *p*reparar *Solução padrão A* (amarela) conforme indicado na **Tabela 2** a partir das soluções base de cloreto de cobalto (vermelha) e de cloreto férrico (amarela) **(5.2.12)**. A partir da *Solução padrão A*, preparar a *Solução de referência A₄* de acordo com a **Tabela 3.**

Procedimento: em tubos de ensaio, idênticos, de vidro neutro, incolor e transparente, com diâmetro externo de 12 mm, comparar 2,0 mL da amostra com 2,0 mL da *Solução de referência A₄*. Observar as tonalidades à luz natural difusa, observar horizontalmente sobre fundo branco.

Tabela 2 – Volumes em mililitros das soluções.

Solução padrão	***Solução amarela***	***Solução vermelha***	***Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl***
A (amarela)	2,4	0,6	7,0

Tabela 3 – Volume em mililitros das soluções de referência A.

Solução de referência	***Solução padrão A***	***Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl***
A_1	100,0	0,0
A_2	75,0	25,0
A_3	50,0	50,0
A_4	25,0	75,0
A_5	12,5	87,5
A_6	5,0	95,0
A_7	2,5	97,5

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 6,5. Se a solução contiver bicarbonato, o pH está compreendido entre 6,5 e 8,0.

ENSAIOS DE PUREZA

Alumínio. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio* **(5.3.2.10).** Utilizar o *Método I*. No máximo, 10 ppm. Medir 200 mL da amostra, ajustar para pH 6,0 usando solução 0,1 molar de ácido clorídrico ou solução 0,1 molar de hidróxido de sódio e adicionar 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0. A solução satisfaz ao ensaio limite do alumínio (10 µg/L). Utilizar como padrão uma mistura de 1 mL de solução a 2 ppm de alumínio (Al), 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 9 mL de água e como branco uma mistura de 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 10 mL de água.

Hidroximetilfurfural. Medir um volume da amostra equivalente a 25 mg de glicose, adicionar 5 mL de solução de *p*-toluidina a 100 g/L em álcool isopropílico contendo 10% v/v de ácido acético glacial e em seguida, 1 mL de solução de ácido barbitúrico a 5 g/L. A absorvância (**5.2.14**) da solução, determinada em 550 nm após um repouso de dois a três minutos, não é superior à absorvância de um padrão preparado, simultaneamente e nas mesmas condições, com uma solução contendo 10 µg de hidroximetilfurfural no mesmo volume que o da solução problema. Se a solução contiver bicarbonato, utilizar como padrão uma solução contendo 20 µg de hidroximetilfurfural.

Contaminação por partículas (5.1.7.1). Utilizar o *Método I.* Realizar o ensaio das partículas não visíveis em 50 mL da amostra.

Tabela 4 - Número limite de partículas por mililitro.

Partículas superiores a 10 µm	***Partículas superiores a 25 µm***
25	3

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,05 UE/mL de amostra.

Nota: *as soluções às quais não for possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o seguinte teste adicional.*

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da amostra.

DOSEAMENTO

Sódio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2).** Utilizar o *Método II.* Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 200 ppm de sódio (Na).

Procedimento: determinar a absorvância em 589,0 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno.

Potássio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

*Solução amostra: s*e necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado. A 100 mL da solução adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de potássio (K). A 100 mL de cada solução padrão adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Procedimento: determinar a absorvância em 766,5 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno.

Cálcio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 400 ppm de cálcio (Ca).

Procedimento: determinar a absorvância em 422,7 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de cálcio como fonte de radiação e uma chama de gás ar-propano ou ar-acetileno.

Magnésio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de magnésio (Mg).

Procedimento: determinar a absorvância em 285,2 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de magnésio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno.

Cloreto total.

Usar um volume exatamente medido da amostra correspondente a cerca de 60 mg de cloreto e completar para 50 mL com água. Adicionar 5 mL de ácido nítrico diluído, 25 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV e 2 mL de ftalato de dibutila e agitar. Titular com tiocianato de amônia 0,1 *M* SV em presença de 2 mL de solução de sulfato férrico amoniacal SR, até coloração amarela avermelhada. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* equivale a 3,545 mg de Cl.

Acetato.

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de acetato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizado entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 0,1 mmol de acetato.

Lactato.

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de lactato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Adicionar 50 mL de acetonitrila. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizado entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 0,1 mmol de lactato.

Bicarbonato de sódio.

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,1 g de bicarbonato de sódio. Titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto de equivalência potenciometricamente. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV equivale a 8,401 mg de $NaHCO_3$.

Lactato e bicarbonato.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector refratômetro diferencial; coluna de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de cátions (9 μm); mantida à 60 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel: ácido sulfúrico 0,005 *M* previamente desgaseificado com hélio;

Solução amostra: utilizar a amostra.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de lactato e de bicarbonato em água e completar o volume para 100 mL de modo a obter concentrações próximas de 90%, 100% e 110% dos teores indicados no rótulo.

Procedimento: injetar, em duplicata, 20 μL da *Solução amostra* e 20 μL de cada *Solução padrão.* Quando os cromatogramas são registrados nas condições prescritas, os picos são eluidos na ordem seguinte: lactato e depois bicarbonato. Determinar o teor de lactato e bicarbonato na amostra por interpolação da área sob o pico, para o lactato e da altura do pico, para o bicarbonato, a partir da reta de regressão linear obtida com as *Soluções padrão.*

Açúcares redutores (expressos em glicose anidra).

Transferir para um erlenmeyer de 250 mL de boca esmerilhada um volume da amostra correspondente a 25 mg de glicose. Adicionar 25 mL de citrato cúprico SR e alguns pedaços de pedra pomes. Adaptar um destilador de refluxo e levar à ebulição durante**,** exatamente**,** 10 minutos. Resfriar e adicionar 3 g de iodeto de potássio dissolvidos em 3 mL de água. Adicionar, com precaução e em pequenas porções de cada vez, 25 mL de solução de ácido sulfúrico a 25% p/p. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV em presença de solução de amido SI adicionada perto do final da titulação. Fazer um ensaio em branco nas mesmas condições, utilizando 25,0 mL de água. Calcular o teor em açúcares redutores expresso em glicose anidra ($C_6H_{12}O_6$) utilizando os valores registrados na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Correspondência entre volumes de tiossulfato de sódio 0,1 *M* e glicose anidra.

Volume de tiossulfato de sódio 0,1 M (mL)	***Glicose anidra (mg)***
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

ARMAZENAMENTO

Não armazenar em temperatura inferior a 4 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve indicar: a fórmula da preparação, expressa em gramas por litro e em milimols por litro; a osmolalidade calculada, expressa em miliosmols por litro; o volume nominal da solução no recipiente; que a solução está isenta de endotoxinas bacterianas e apirogênica; as condições de conservação e que as quantidades não utilizadas são desprezadas.

SOLUÇÕES PARA HEMOFILTRAÇÃO E HEMODIAFILTRAÇÃO

Solutiones ad haemocolaturam haemodiacolaturamque

As soluções para hemofiltração e para hemodiafiltração são preparações estéreis e apirogênicas para uso parentérico contendo eletrólitos em concentrações próximas a do plasma humano. A glicose pode fazer parte da formulação.

Devem ser fornecidas em recipientes de material plástico, rígido ou semirrígido; recipientes de material plástico flexível, contidos em invólucros protetores fechados, ou recipientes de vidro.

Os recipientes fabricados de material plástico e suas tampas satisfazem às exigências para *Recipientes plásticos* **(6.2)** e *Tampas de elastômero* **(6.2.2)**.

Para hemofiltração e hemodiafiltração são utilizadas as formulações registradas na **Tabela 1,** usualmente com os seguintes limites de concentrações por litro de solução. Na tabela também estão os limites de especificação, em relação ao valor rotulado, para cada componente.

Tabela 1 - Concentração dos componentes por litro de solução e limites de especificação.

Componentes da solução	*Concentração em mmol/L*	*Concentração em mEq/L*	*Limite de especificação (%)*
Sódio	125-150	125-150	97,5 a 102,5
Potássio	0-4,5	0-4,5	95,0 a 105,0
Cálcio	1,0-2,5	2,0-5,0	95,0 a 105,0
Magnésio	0,25-1,5	0,50-3,0	95,0 a 105,0
Acetato, lactato ou bicarbonato	30-60	30-60	95,0 a 105,0
Cloreto	90-120	90-120	95,0 a 105,0
Glicose	0-25		95,0 a 105,0

Quando o bicarbonato está presente, a solução de bicarbonato de sódio está contida em um recipiente ou compartimento separado e é misturada com a solução eletrolítica imediatamente antes da utilização.

Em hemofiltração e hemodiafiltração podem igualmente utilizar-se as formulações registradas na **Tabela 2,** usualmente com os seguintes limites de concentrações por litro de solução. Na tabela também estão os limites de especificação, em relação ao valor rotulado, para cada componente.

Tabela 2 - Concentração dos componentes por litro de solução e limites de especificação.

Componentes da solução	*Concentração em mmol/L*	*Concentração em mEq/L*	*Limite de especificação (%)*
Sódio	130-167	130-167	97,5 a 102,5
Potássio	0-4,0	0-4,0	95,0 a 105,0
Bicarbonato	20-167	20-167	95,0 a 105,0
Cloreto	0-147	0-147	95,0 a 105,0

Às soluções não são adicionadas nenhum antioxidante como, por exemplo, sais de metabissulfito.

IDENTIFICAÇÃO

Segundo a sua composição, a amostra satisfaz às reações de identificação relacionadas a seguir.

A. Potássio: satisfaz à reação 2 **(5.3.1.1)**.

B. Cálcio: a 0,2 mL da solução prescrita adicionar 0,5 mL de uma solução 2 g/L de glioxal-hidroxianil em álcool etílico a 96% SR, 0,2 mL de hidróxido de sódio diluído SR e 0,2 mL de solução de carbonato de sódio SR. Agitar com 1 mL a 2 mL de clorofórmio e adicionar 1 mL a 2 mL de água. A fase de clorofórmio torna-se avermelhada.

C. Sódio: utilizar 0,5 mL da solução. Adicionar 1,5 mL de reagente metoxifenilacético e resfriar em água gelada por 30 minutos. Um precipitado cristalino branco volumoso é formado. Colocar em água a 20 ºC e agitar por cinco minutos. O precipitado não desaparece. Adicionar 1 mL de amônia SR 6 *M*. O precipitado dissolve-se completamente. Adicionar 1 mL de solução de carbonato de amônio SR. Não se forma nenhum precipitado.

D. Cloreto: satisfaz à reação 1 **(5.3.1.1)**.

E. Se a solução não contiver glicose, responde à seguinte reação do acetato: utilizar 3 mL da solução prescrita. Adicionar, sucessivamente, 0,25 mL de solução de nitrato de lantânio, 0,1 mL de iodo 0,05 *M* e 0,05 mL de amônia SR. Aquecer, cuidadosamente, à ebulição. Em poucos minutos, aparece um precipitado azul ou uma coloração azul-escura. Se a solução contiver glicose, responde à seguinte reação: em um tubo de ensaio com rolha e um tubo curvo, adicionar 5 mL da amostra e 1 mL de ácido clorídrico; aquecer e recolher alguns mililitros do destilado. Nesse, realizar a reação descrita anteriormente para a solução que não contenha glicose.

F. Lactato: satisfaz à reação do lactato **(5.3.1.1)**.

G. Carbonato e bicarbonato: satisfaz às reações do carbonato e às do bicarbonato **(5.3.1.1)**.

H. Magnésio: a 0,1 mL de amarelo de titânio SR, adicionar 10 mL de água, 2 mL da amostra e 1 mL de hidróxido de sódio *M*. Desenvolve-se coloração rósea.

I. Glicose: a 5 mL da amostra adicionar 2 mL de solução diluída de hidróxido de sódio e 0,05 mL de solução de sulfato de cobre. A solução fica azul. Aqueça à ebulição; forma-se um abundante precipitado vermelho.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. A amostra é límpida **(5.2.25)**. Se não contiver glicose, é incolor **(5.2.12)**; se contiver glicose não é mais corada que a solução de referência A_7, preparada como descrito a seguir.

*Solução de referência A_7: p*reparar solução padrão A (amarela) conforme indicado na **Tabela 3** a partir das soluções base de cloreto de cobalto (vermelha) e de cloreto férrico (amarela) **(5.2.12)**. A partir da solução padrão A, preparar a solução de referência A_7 de acordo com a **Tabela 4.**

Procedimento: em tubos de ensaio, idênticos, de vidro neutro, incolor e transparente, com diâmetro externo de 12 mm, comparar 2,0 mL da amostra com 2,0 mL da solução de referência A_7. Observar as tonalidades à luz natural difusa, observar horizontalmente sobre fundo branco.

Tabela 3 – Volumes em mililitros das soluções.

Solução padrão	***Solução amarela***	***Solução vermelha***	***Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl***
A (amarela)	2,4	0,6	7,0

Tabela 4 – Volume em mililitros das soluções de referência A.

Solução de referência	***Solução padrão A***	***Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl***
A_1	100,0	0,0
A_2	75,0	25,0
A_3	50,0	50,0
A_4	25,0	75,0
A_5	12,5	87,5
A_6	5,0	95,0
A_7	2,5	97,5

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). Se a amostra contiver glicose, o pH está compreendido entre 4,5 e 6,5. Se a amostra contiver bicarbonato, o pH está compreendido entre 7,0 e 8,5. Se a amostra contiver glicose e bicarbonato, o pH está compreendido entre 5,0 a 7,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Alumínio. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio* **(5.3.2.10).** Utilizar o *Método I.* No máximo, 10 ppm. Usar 200 mL da amostra, ajustar para pH 6,0 usando solução 0,1 *M* de ácido clorídrico ou solução 0,1 *M* de hidróxido de sódio e adicionar 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0. A solução satisfaz ao ensaio limite do alumínio (10 μg/L). Utilizar como padrão uma mistura de 1 mL de solução a 2 ppm de alumínio (Al); 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 9 mL de água e como branco uma mistura de 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 10 mL de água.

Hidroximetilfurfural. Usar um volume da amostra equivalente a 25 mg de glicose, adicionar 5 mL de solução de *p*-toluidina a 100 g/L em álcool isopropílico contendo 10% v/v de ácido acético glacial e, em seguida, 1 mL de solução de ácido barbitúrico a 5 g/L. A absorvância **(5.2.14)** da solução, determinada em 550 nm após um repouso de dois a três minutos, não é superior à absorvância de um padrão preparado, simultaneamente e nas mesmas condições, com uma solução contendo 10 μg de hidroximetilfurfural no mesmo volume que o da solução problema. Se a solução contiver bicarbonato, utilizar como padrão uma solução contendo 20 μg de hidroximetilfurfural.

Contaminação por partículas (5.1.7.1). Utilizar o *Método I.* Realizar o ensaio das partículas não visíveis em 50 mL da amostra.

Tabela 5 – Número limite de partículas por mililitro.

Partículas superiores a 10 μm	***Partículas superiores a 25 μm***
25	3

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,05 UE/mL de amostra.

Nota: a*s soluções às quais não for possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o seguinte teste adicional.*

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da amostra.

DOSEAMENTO

Sódio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2).** Utilizar o *Método II.* Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 200 ppm de sódio (Na).

Procedimento: determinar a absorvância em 589,0 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno.

Potássio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método I.* Preparar as soluções descritas a seguir.

*Solução amostra: s*e necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado. A 100 mL da solução adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

*Soluções padrão: p*reparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de potássio (K). A 100 mL de cada solução padrão adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Procedimento: determinar a absorvância em 766,5 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno.

Cálcio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método I.* Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 400 ppm de cálcio (Ca).

Procedimento: determinar a absorvância em 422,7 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de cálcio como fonte de radiação e uma chama de gás ar-propano ou ar-acetileno.

Magnésio.

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1).** Utilizar o *Método I.* Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de magnésio (Mg).

Procedimento: determinar a absorvância em 285,2 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de magnésio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno.

Cloreto total.

Usar um volume, exatamente medido, da amostra correspondente a cerca de 60 mg de cloreto e completar para 50 mL com água. Adicionar 5 mL de ácido nítrico diluído, 25 mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV e 2 mL de ftalato de dibutila e agitar. Titular com tiocianato de amônia 0,1 *M* SV em presença de 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR até coloração amarela avermelhada. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 3,545 mg de Cl^-.

Acetato.

Utilizar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de acetato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizado entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* equivale a 0,1 mmol de acetato.

Lactato.

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de lactato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Adicionar 50 mL de acetonitrila. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV utilizado entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 0,1 mmol de lactato.

Bicarbonato de sódio.

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,1 g de bicarbonato de sódio. Titular com ácido clorídrico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto de equivalência potenciometricamente. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 *M* SV corresponde a 8,401 mg de $NaHCO_3$.

Lactato e bicarbonato.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector refratômetro diferencial; coluna de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de cátions (9 μm); mantida à 60 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel: ácido sulfúrico 0,005 *M* previamente desgaseificado com hélio;

Solução amostra: utilizar a amostra.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de lactato e de bicarbonato em 100 mL de água de modo a obter concentrações próximas de 90%, 100% e 110% dos teores indicados no rótulo.

Procedimento: injetar, em duplicata, 20 μL da *Solução amostra* e 20 μL de cada *Solução padrão.* Quando os cromatogramas são registrados nas condições prescritas, os picos são eluidos na ordem seguinte: lactato e depois bicarbonato. Determinar o teor da amostra em lactato e bicarbonato por interpolação da área sob o pico, para o lactato e da altura do pico, para o bicarbonato, a partir da reta de regressão linear obtida com as *Soluções padrão.*

Açúcares redutores (expressos em glicose anidra).

Para um erlenmeyer de 250 mL de boca esmerilhada, transferir um volume da amostra correspondente a 25 mg de glicose. Adicionar 25 mL de citrato cúprico SR e alguns pedaços de pedra pomes. Adaptar um destilador de refluxo e levar à ebulição durante exatamente 10 minutos. Resfriar e adicionar 3 g de iodeto de potássio dissolvidos em 3 mL de água. Adicionar, com precaução e em pequenas porções de cada vez, 25 mL de solução de ácido sulfúrico a 25% p/p. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV em presença de solução de amido SI adicionada perto do final da titulação. Fazer um ensaio em branco nas mesmas condições, utilizando 25,0 mL de água. Calcular o teor em açúcares redutores expresso em glicose anidra ($C_6H_{12}O_6$) utilizando a **Tabela 6**.

Tabela 6 – Correspondência entre tiossulfato de sódio 0,1 *M* e glicose anidra.

Volume de tiossulfato de sódio 0,1 M (mL)	***Glicose anidra (mg)***
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

ARMAZENAMENTO

Não armazenar em temperatura inferior a 4 °C.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. No rótulo deve constar a fórmula da preparação, expressa em gramas por litro e em milimols por litro; a osmolalidade calculada, expressa em miliosmols por litro; o volume nominal da solução no recipiente; que a solução está isenta de endotoxinas bacterianas e apirogênica; as condições de conservação e que as quantidades não utilizadas são desprezadas.

SOLUÇÕES PARA IRRIGAÇÃO
Solutiones ad irrigationem

As soluções para irrigação são soluções aquosas de grande volume, estéreis, para serem usadas para a irrigação de cavidades corporais, feridas e superfícies, por exemplo, durante intervenções cirúrgicas.

As soluções para irrigação podem ser soluções preparadas dissolvendo um ou mais princípios ativos, eletrólitos ou substâncias osmoticamente ativas em água, a qual satisfaça os requisitos da monografia *Água para injetáveis*, ou podem ser compostas dessa água somente. Nesse último caso, a solução pode ser etiquetada como *Água para irrigação*. As soluções para irrigação são geralmente ajustadas para que sejam isotônicas com o sangue.

Quando examinadas sob condições visuais adequadas, as soluções para irrigação são praticamente isentas de partículas.

As soluções para irrigação são apresentadas em recipiente para dose única. Os recipientes e suas tampas devem satisfazer as exigências da monografia *Envases para preparações de uso parenteral* em conformidade com as farmacopeias reconhecidas.

O orifício de administração do recipiente é incompatível com os equipamentos de administração intravenosa e impedem que as soluções para irrigação possam ser administradas utilizando esses equipamentos.

PRODUÇÃO

As soluções para irrigação são fabricadas empregando produtos e métodos que garantam a esterilidade e evitem a introdução de contaminantes e o crescimento de micro-organismos; podem ser encontradas recomendações sobre isso no texto *Produtos estéreis* **(8.1)**.Durante o desenvolvimento deve ser demonstrado que o conteúdo nominal pode ser retirado do recipiente.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,5 UE/mL de amostra.

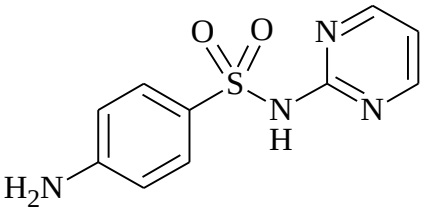
Nota: a*s soluções às quais não for possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o seguinte teste adicional.*

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da amostra.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo deve constar que a preparação não deve ser utilizada para uso parenteral, que a preparação deve ser utilizada uma só vez e que qualquer fração não utilizada deve ser descartada.

SULFADIAZINA
Sulfadiazinum



$C_{10}H_{10}N_4O_2S$; 250,28
sulfadiazina; 08116
4-Amino-*N*-2-pirimidinil-benzenossulfonamida
[*68-35-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou branco-amarelado. Escurece lentamente pela exposição à luz.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos e solúvel em ácido clorídrico 3 *M*.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 252 ºC a 256 ºC, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfadiazina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. Dissolver 50 mg da amostra em 2 mL de ácido clorídrico SR com aquecimento. Resfriar em banho de gelo e adicionar 2 mL de nitrito de sódio SR. Diluir com 2 mL de água gelada e adicionar 1 mL de 2-naftol SR. Produz-se precipitado alaranjado.

D. Aquecer, com cuidado, à chama direta ou em banho de areia, 50 mg da amostra em tubo de ensaio seco. Desenvolve-se coloração castanho-avermelhada e os vapores que se desprendem não modificam o papel umedecido de acetato de chumbo.

E. Aquecer 1 g da amostra, brandamente, em tubo de ensaio, sobre chama fraca, até sublimação. Com bastão de vidro, recolher alguns miligramas do sublimado e misturar em tubo de ensaio com 1 mL de

resorcinol a 5% (p/v) em álcool etílico a 90% (v/v). Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico e agitar. Produz-se imediatamente coloração vermelha escura. Diluir a mistura, cuidadosamente, com 25 mL de água gelada e adicionar excesso de amônia 6 *M*. Desenvolve-se coloração azul ou azul-avermelhada.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em mistura de 5 mL de hidróxido de sódio SR e 20 mL de água. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)**.

Acidez. Aquecer 1 g da amostra com 50 mL de água isenta de dióxido de carbono a 70 ºC, durante cinco minutos. Resfriar rapidamente a 20 ºC e filtrar. No máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* são necessários para neutralizar 25 mL do filtrado, utilizando fenolftaleína SI como indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e hidróxido de amônio (30:12:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 100 µg/mL da amostra em mistura de tolueno e dimetilformamida (2:1).

Solução (2): solução a 100 µg/mL de sulfadiazina SQR em mistura de tolueno e dimetilformamida (2:1).

Solução (3): solução a 2 µg/mL de sulfanilamida em mistura de tolueno e dimetilformamida (2:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido clorídrico 1 *M* em álcool metílico e, em seguida, com nitrito de sódio a 1% (p/v) em álcool etílico a 90% (v/v). Aguardar de três a cinco minutos e nebulizar com dicloridrato de *N*-(1-naftil)etilenodiamina a 0,5% (p/v) em álcool etílico a 90% (v/v). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (2,0%).

Arsênio (5.3.2.5). Proceder conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,0002% (2 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Ferver 1 g em mistura de 10 mL de ácido nítrico SR e 5 mL de água destilada. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,035% (350 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Dissolver 1 g da amostra, com aquecimento, em mistura de 10 mL de ácido clorídrico SR e 5 mL de água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos*. No máximo, 0,12% (1200 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações por diazotação* **(5.3.3.1)**, *Método 2*. Cada mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV equivale a 25,028 mg de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em hidróxido de sódio 0,1 *M* e diluir com o mesmo solvente até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 254 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 200 mL com auxílio de 30 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Agitar até dissolução, completar o volume com água e homogeneizar. Realizar diluições sucessivas em água até concentração de 0,005% (p/v). Preparar solução padrão a 0,25% (p/v) em mistura de água e hidróxido de sódio 0,1 *M* (85:15). Realizar diluições sucessivas em água até concentração de 0,005% (p/v). Transferir 2 mL da *Solução padrão* e da *Solução amostra* para balões volumétricos de 25 mL. Adicionar, a cada balão, 1 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 1 mL de nitrito de sódio a 0,1% (p/v). Agitar e deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 1 mL de sulfamato de amônio a 0,5% (p/v), agitar e deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 1 mL de dicloridrato de *N*-(1-naftil) etilenodiamina SR, agitar e deixar em repouso por 10 minutos. Completar os volumes com água. Preparar branco em paralelo. Medir as absorvâncias das soluções em 540 nm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antisséptico.

SULFADIAZINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade de pó equivalente a 0,5 g de sulfadiazina e triturar em gral com 5 mL de clorofórmio. Filtrar e descartar o filtrado. Triturar o resíduo com 10 mL de hidróxido de amônio 6 *M* por cinco minutos, adicionar 10 mL de água e filtrar. Aquecer o filtrado até eliminar toda a amônia e resfriar. Adicionar ácido acético 6 *M* até reação distintamente ácida. Forma-se precipitado de sulfadiazina. Filtrar e lavar o precipitado com água fria. Secar o resíduo a 105 °C por uma hora. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas, que os observados com a sulfadiazina SQR.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* em álcool etílico, há máximos e mínimos somente nos comprimentos de onda de solução similar de sulfadiazina SQR.

C. A mancha principal obtida com a *Solução (1),* obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

D. Dissolver 50 mg do resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* em 2 mL de ácido clorídrico a 10% (p/v), com aquecimento. Resfriar em banho de gelo e adicionar 2 mL de nitrito de sódio a 10% (p/v). Diluir com 10 mL de água gelada e adicionar 2 mL de 2-naftol SR. Forma-se precipitado alaranjado.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **A.** de *Doseamento.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 90 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em hidróxido de sódio 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 254 nm **(5.2.14)**, utilizando hidróxido de sódio 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de sulfadiazina SQR na concentração de 0,0005% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ se dissolvem em 90 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder como descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Sulfadiazina*. Preparar a *Solução (1)* utilizando o resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação*.

Água (5.2.20.1). No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 de ultravioleta a 257 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila e ácido acético glacial (87:12:1).

Solução amostra: pesar e pulverizar, no mínimo, 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó, pesada com exatidão, equivalente a 0,1 g de sulfadiazina, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 75 mL de hidróxido de sódio 0,025 *M*, deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, completar o volume com o mesmo solvente, misturar e filtrar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfadiazina SQR, em solução de hidróxido de sódio 0,025 *M*, de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

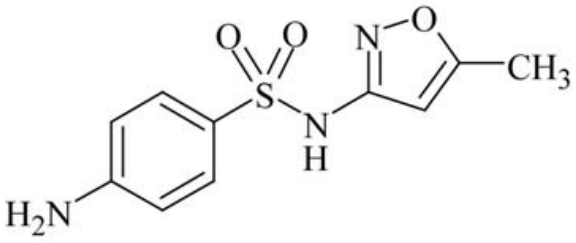
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFAMETOXAZOL
Sulfamethoxazolum



$C_{10}H_{11}N_3O_3S$; 253,28
sulfametoxazol; 08134
4-Amino-*N*-(5-metil-3-isoxazolil)benzenossulfonamida
[*723-46-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções diluídas de hidróxido de sódio.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 168 ºC a 172 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfametoxazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro de solução similar de sulfametoxazol SQR. As absorvâncias das soluções em 257 nm diferem, no máximo, 2,0%.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

D. Dissolver 0,1 g da amostra em 2 mL de ácido clorídrico 2 *M*. A solução obtida satisfaz à reação de amina aromática primária **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Alcalinidade. Adicionar 25 mL de água a 1,25 g de amostra finamente pulverizada. Aquecer à 70 ºC por cinco minutos. Resfriar em água gelada por cerca de 15 minutos e filtrar. A 20 mL do filtrado,

adicionar 0,1 mL de azul de bromotimol SI. No máximo, 0,3 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* são necessários para mudar a cor do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de amônia, água, nitrometano e dioxano (3:5:40:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 5 mL. Dissolver em mistura de amônia e álcool metílico (2:48) e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 5 mL em mistura de amônia e álcool metílico (2:48).

Solução (3): transferir 20 mg de sulfametoxazol SQR para balão volumétrico de 5 mL, dissolver em 3 mL de mistura de amônia e álcool metílico (2:48) e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (4): diluir 1,25 mL da *Solução (2)* para 50 mL em mistura de amônia e álcool metílico (2:48).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar a 105 ºC. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha obtida no cromatograma da *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha obtida no cromatograma da *Solução (4)* (0,5%).

Sulfanilamida e ácido sulfanílico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool etílico, *n*-heptano, clorofórmio e ácido acético glacial (25:25:25:7), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL da *Solução (1)* e da *Solução (3)* e 25 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL. Dissolver em 0,1 mL de hidróxido de amônio e completar o volume com álcool metílico.

Solução (2): dissolver 20 mg de sulfanilamida SQR e 20 mg de ácido sulfanílico em 10 mL de hidróxido de amônio e completar o volume para balão volumétrico de 100 mL com álcool metílico. Transferir 2 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 10 mL de hidróxido de amônio e completar o volume com álcool metílico.

Solução (3): transferir 0,1 g de sulfametoxazol SQR para balão volumétrico de 10 mL. Dissolver em 0,1 mL de hidróxido de amônio e completar o volume com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar ao ar. Pulverizar a placa com reagente de Erlich modificado. Os fatores de retenção (Rf) são: 0,7 para o sulfametoxazol, 0,5 para a sulfanilamida e 0,1 para o ácido sulfanílico. Nenhuma mancha de ácido sulfanílico e de sulfanilamida no cromatograma da *Solução (1)* não é mais intensa que a correspondente no cromatograma da *Solução (2)* (0,2%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 ºC, por quatro horas, até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações por diazotação* **(5.3.3.1)**, *Método 2*. Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em mistura de 20 mL de ácido acético glacial e 40 mL de água e adicionar 15 mL de ácido clorídrico. Resfriar a 15 ºC. Titular imediatamente com nitrito de sódio 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV equivale a 25,328 mg de $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

SULFAMETOXAZOL E TRIMETOPRIMA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de sulfametoxazol ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$) e trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$).

IDENTIFICAÇÃO

A. Filtrar a camada aquosa reservada no método **A.** de *Doseamento*. Adicionar, gota a gota, quantidade suficiente de ácido clorídrico 2 *M* para acidificar e extrair com 50 mL de éter etílico. Lavar a camada etérea com 10 mL de água, misturar com 5 g de sulfato de sódio anidro, filtrar e evaporar o filtrado até secura. Dissolver o resíduo em volume mínimo de carbonato de sódio anidro a 5% (p/v), adicionar, gota a gota, ácido clorídrico *M* até precipitação e filtrar. Lavar o precipitado com água e secar a 105 °C, até peso constante. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, previamente dessecado, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfametoxazol SQR.

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de trimetoprima para funil de separação, adicionar 30 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e agitar. Extrair com quatro porções de 50 mL de clorofórmio, lavando cada extrato com duas porções de 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e com 10 mL de água. Agitar com 5 mg de sulfato de sódio anidro, filtrar e secar a 105 °C, até peso constante. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, previamente dessecado, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de trimetoprima SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool isopropílico e dietilamina (60:50:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 4 mg de trimetoprima para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 8 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com álcool metílico. Homogeneizar e filtrar.

Solução (2): preparar solução a 0,4 mg/mL de trimetoprima SQR em álcool metílico.

Solução (3): preparar solução a 2 mg/mL de sulfametoxazol SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). As manchas referentes ao sulfametoxazol e à trimetropima, obtidas com a *Solução (1)*, correspondem em posição, cor e intensidade àquelas obtidas com a *Solução (2)* e a *Solução (3)*, respectivamente.

D. Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 *M*, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 75 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, utilizar alíquota do meio de dissolução como *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento*, realizando diluições, se necessário.

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada de sulfametoxazol ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$) e trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$) se dissolvem em 60 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo, 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

*Empregar os métodos **A.** e **B.** ou, unicamente, o método **C.**, descritos a seguir.*

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de trimetoprima para balão volumétrico de 25 mL, dissolver em hidróxido de sódio 0,1 *M* e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir, quantitativamente, a solução para funil de separação, extrair com quatro porções de 50 mL de clorofórmio, lavando cada extrato com 20 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Reservar a camada aquosa para o teste **A.** de *Identificação*. Reunir os extratos clorofórmicos e extrair com quatro porções de 60 mL de ácido acético *M*. Reunir os extratos ácidos, lavá-los com 5 mL de clorofórmio e diluir o extrato aquoso para 250 mL com ácido acético *M*. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de ácido acético *M* e completar o volume com água. Preparar solução padrão de trimetoprima SQR a 0,002% (p/v) utilizando ácido acético 0,1 *M* como solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando ácido acético 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$) nos comprimidos a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 204, em 271 nm.

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Pesar quantidade do pó equivalente a 0,5 g de sulfametoxazol e proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Sulfametoxazol*.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 1400 mL de água, 400 mL de acetonitrila e 2 mL de trietilamina em balão volumétrico de 2000 mL. Ajustar o pH para 5,9 ± 0,1 com hidróxido de sódio 0,2 *M* ou ácido acético glacial. Completar o volume com água.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,16 g de sulfametoxazol e 32 mg de trimetoprima para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: preparar uma solução de modo a obter concentração de sulfametoxazol SQR a 1,6 mg/mL e de trimetoprima SQR a 0,32 mg/mL em álcool metílico. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com a *Fase móvel*, obtendo solução contendo sulfametoxazol a 160 μg/mL e trimetoprima a 32 μg/mL.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são de 1,0 para trimetoprima e 1,8 para sulfametoxazol. A resolução entre os picos de sulfametoxazol e trimetoprima é, no mínimo, 5,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de sulfametoxazol ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$) e de trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$) nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFAMETOXAZOL E TRIMETOPRIMA SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de sulfametoxazol ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$) e trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$).

IDENTIFICAÇÃO

*O teste **A.** refere-se à identificação da trimetoprima e o teste **B.** refere-se à identificação do sulfametoxazol. O teste de identificação **D.** pode ser omitido se for realizado o teste **C**.*

A. A um volume da suspensão oral equivalente a 40 mg de trimetoprima, adicionar 30 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* e agitar. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* na monografia de *Sulfametoxazol e trimetoprima comprimidos*.

B. Utilizar a camada aquosa obtida no teste **A.** de *Identificação* e proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* na monografia de *Sulfametoxazol e trimetoprima comprimidos*.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e dimetilformamida (100:10:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): adicionar 20 mL de álcool metílico à quantidade de suspensão oral equivalente a 0,4 g de sulfametoxazol e 80 mg de trimetoprima. Adicionar 10 g de sulfato de sódio anidro e homogeneizar. Centrifugar e utilizar o sobrenadante.

Solução (2): solução de sulfametoxazol SQR a 20 mg/mL em álcool metílico.

Solução (3): solução de trimetoprima SQR a 4 mg/mL em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com iodobismutado de potássio diluído. As manchas referentes ao sulfametoxazol e trimetoprima com a *Solução (1)* correspondem em posição, cor e intensidade àquelas obtidas com a *Solução (2)* e a *Solução (3)*.

D. Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 6,5.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de produto de degradação da trimetoprima. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de clorofórmio, álcool metílico e hidróxido de amônio (80:20:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume de suspensão oral equivalente a 40 mg de trimetoprima para funil de separação. Extrair com três porções de 25 mL de mistura de clorofórmio e álcool metílico (8:2).

Reunir os extratos clorofórmicos em béquer e evaporá-los em banho-maria até secura. Dissolver o resíduo em 2 mL do mesmo solvente.

Solução (2): preparar solução a 20 mg/mL de trimetoprima SQR em mistura de clorofórmio e álcool metílico (8:2).

Solução (3): diluir volume da *Solução (2)* em mistura de clorofórmio e álcool metílico (8:2) de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Desenvolver cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A trimetoprima apresenta mancha com Rf de aproximadamente 0,7 e seu produto de degradação apresenta mancha com Rf entre 0,3 e 0,5. Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, com Rf de aproximadamente 0,3 e 0,5, é, no máximo, em tamanho e intensidade, igual àquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

Limite de sulfanilamida, ácido sulfanílico e sulfametoxazol N_4-glucosídeo. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool etílico e álcool metílico (95:5), heptano, clorofórmio e ácido acético glacial (25:25:25:7), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 50 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir volume de suspensão oral equivalente a 0,2 g de sulfametoxazol para balão volumétrico de 100 mL, contendo 10 mL de hidróxido de amônio. Adicionar 50 mL de álcool metílico. Agitar durante três minutos e completar volume com o mesmo solvente. Filtrar.

Solução (2): transferir 20 mg de sulfametoxazol SQR para balão volumétrico de 10 mL. Dissolver em 1 mL de hidróxido de amônio e completar volume com álcool metílico.

Solução (3): transferir 10 mg de sulfanilamida SQR para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver em 5 mL de hidróxido de amônio e completar volume com álcool metílico. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 10 mL de hidróxido de amônio e completar volume com álcool metílico.

Solução (4): transferir 10 mg de ácido sulfanílico SQR para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em 5 mL de hidróxido de amônio e completar o volume com álcool metílico. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 10 mL de hidróxido de amônio e completar o volume com álcool metílico.

Solução (5): transferir 3 mg de sulfametoxazol N_4-glucosídeo SQR para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver em 5 mL de hidróxido de amônio e completar volume com álcool metílico.

Desenvolver cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com reagente de Erlich modificado e deixar em repouso durante 15 minutos. O sulfametoxazol apresenta manchas com Rf de cerca de 0,7. Quaisquer manchas obtidas no cromatograma com a *Solução (1)*, com Rf de aproximadamente 0,5, 0,1 e 0,3, são, no máximo, em tamanho e intensidade, iguais às manchas obtidas nos cromatogramas com as *Soluções (3)*, *(4)* e (*5)*, respectivamente, correspondendo a, no máximo, 0,5% de sulfanilamida, 0,3% de ácido sulfanílico e 3,0% de sulfametoxazol N_4-glucosídeo.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta e visível* **(5.2.14)**. Proteger as soluções da luz.

Procedimento para o sulfametoxazol: transferir para funil de separação volume da suspensão oral equivalente a 0,2 g de sulfametoxazol. Adicionar 10 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*. Extrair com seis porções de 25 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e reservá-los para o *Procedimento para a trimetoprima*. Transferir a solução aquosa para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com água. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 4 mL de ácido clorídrico 0,5 *M* e 1 mL de nitrito de sódio a 0,1% (p/v). Deixar em repouso, em banho de gelo, durante 10 minutos. Adicionar 2 mL de sulfamato de amônio a 0,5% (p/v) e deixar em repouso durante 10 minutos. Adicionar 1 mL de dicloridrato de *N*-(1-naftil)etileno-diamina a 0,1% (p/v), deixar em repouso durante 10 minutos e completar o volume com água. Para o preparo da solução padrão, transferir 50 mg de sulfametoxazol SQR para balão volumétrico de 50 mL, contendo 2,5 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*, e completar o volume com água. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Repetir o procedimento a partir de "Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL...". Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 538 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de sulfametoxazol ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$) na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

Procedimento para a trimetoprima: extrair a solução clorofórmica reservada no *Procedimento para sulfametoxazol* com quatro porções de 20 mL de ácido acético 1 *M*. Reunir os extratos aquosos, lavá-los com 5 mL de clorofórmio e diluí-los para 100 mL com ácido acético 1 *M*. Transferir 2 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 5 mL de ácido acético 1 *M* e completar o volume com água, de modo a obter solução a 0,0016% (p/v). Preparar solução de trimetoprima SQR na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando ácido acético 1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$) na suspensão oral a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 204, em 271 nm, em ácido acético 1 *M*.

B. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento* na monografia de *Sulfametoxazol e trimetoprima comprimidos*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir volume da suspensão oral equivalente a 0,16 g de sulfametoxazol e 32 mg de trimetoprima para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de álcool metílico. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos, agitando ocasionalmente. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de sulfametoxazol ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$) e trimetoprima ($C_{14}H_{18}N_4O_3$) na suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

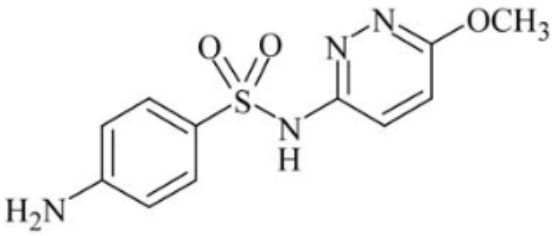
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFAMETOXIPIRIDAZINA

Sulfamethoxypyridazinum



$C_{11}H_{12}N_4O_3S$; 280,30
sulfametoxipiridazina; 08136
4-Amino-*N*-(6-metoxi-3-piridazinil)-benzenossulfonamida
[*80-35-3*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{11}H_{12}N_4O_3S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco a branco-amarelado.

Solubilidade. Muito solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais e hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 182 ºC a 183 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfametoxipiridazina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz à reação de amina aromática primária **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Aquecer 1 g da amostra em 50 mL de água isenta de dióxido de carbono em torno de 70 ºC por cinco minutos, resfriar a 20 ºC e filtrar. A alíquota de 25 mL do filtrado requer, para neutralização, no máximo, 0,35 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC até peso constante. No máximo, 0,5%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações por diazotação* **(5.3.3.1)**, *Método 2*. Cada mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV equivale a 28,030 mg de $C_{11}H_{12}N_4O_3S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

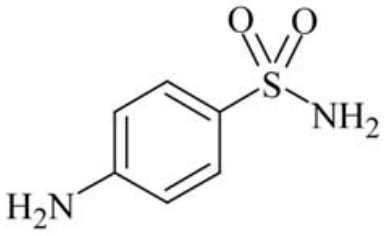
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

SULFANILAMIDA
Sulfanilamidum



$C_6H_8N_2O_2S$; 172,20
sulfanilamida; 08141
4-Aminobenzenossulfonamida
[*63-74-1*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_8N2O_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou branco amarelado.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 164,5 ºC a 166 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfanilamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 5 mg da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. A solução, sem acidificação, satisfaz às reações para amina aromática primária **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Aquecer a cerca de 70 ºC, durante cinco minutos, 1 g da amostra em 50 mL de água destilada, recentemente fervida. Resfriar em banho de gelo por 15 minutos e filtrar. Adicionar 0,1 mL de azul de bromotimol SI em 20 mL do filtrado. No máximo, 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* são necessários para neutralizar a amostra.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC até pesso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações por diazotação* **(5.3.3.1)**, *Método 2.* Cada mL de nitrito de sódio 0,1 *M* SV equivale a 17,220 mg de $C_6H_8N_2O_2S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

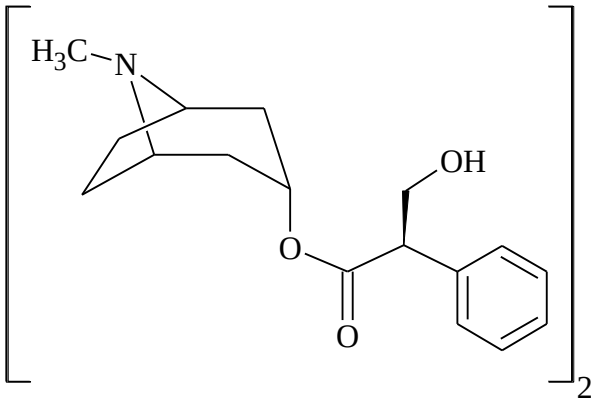
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

SULFATO DE ATROPINA

Atropini sulfas



. H_2SO_4 e enantiômero

$(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4$; 676,82
sulfato de atropina; 00935
Sulfato do éster (3-*endo*)-8-metil-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-ílico do ácido *α*-(hidroximetil)benzenoacético (1:2)
[*55-48-1*]

$(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$; 694,84
sulfato de atropina monoidratado; 11393
Sulfato do éster (3-*endo*)-8-metil-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-ílico do ácido *α*-(hidroximetil)benzenoacético hidratado (1:2:1)
[*5908-99-6*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Cristais incolores ou pó cristalino branco, eflorescente ao ar seco, lentamente alterado pela luz. Funde em temperatura não inferior a 187 °C **(5.2.2)**, determinada imediatamente após dessecação da amostra a 120 °C por quatro horas.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico e em glicerina.

IDENTIFICAÇÃO

*Os testes de identificação **C.**, **D.** e **E.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.**, **B.** e **F**.*

A. Dissolver 50 mg da amostra em 25 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*, adicionar 2 mL de hidróxido de sódio *M* e extrair com duas porções de 10 mL de éter etílico. Secar o extrato etéreo com sulfato de sódio anidro, filtrar, lavar com 5 mL de éter etílico e evaporar o filtrado em temperatura ambiente. Secar o resíduo sobre sílica-gel, utilizando pressão reduzida. Paralelamente, realizar o mesmo procedimento utilizando 50 mg de sulfato de atropina SQR. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de atropina SQR.

B. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas*. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em cor, tamanho e intensidade àquela obtida com a *Solução (4)*.

C. A 1 mg da amostra, adicionar 0,2 mL de ácido nítrico fumegante e evaporar até secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 2 mL de acetona e adicionar 0,1 mL de solução de hidróxido de potássio a 3% (p/v) em álcool metílico. Produz-se coloração violeta.

D. Dissolver aproximadamente 25 mg da amostra em 5 mL de água, acidificar com ácido clorídrico 2 *M* e adicionar 1 mL de iodobismutato de potássio aquo-acético. Forma-se, imediatamente, precipitado alaranjado ou vermelho-alaranjado.

E. A 1 mL de solução aquosa a 5% (p/v) da amostra, adicionar 1 mL de água e 0,5 mL de solução de iodo 0,1 *M*. Forma-se precipitado pardo.

F. A solução aquosa a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 6,2. Determinar em solução a 2% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetona, água e solução concentrada de amônio (90:7:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções descritas a seguir:

Solução (1): solução a 2% (p/v) da amostra em álcool metílico.

Solução (2): solução a 0,02% (p/v) da amostra em álcool metílico.

Solução (3): solução a 0,01% (p/v) da amostra em álcool metílico.

Solução (4): solução a 2% (p/v) de sulfato de atropina SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e secar a temperatura de 100 °C a 105 °C, por 15 minutos. Deixar esfriar e nebulizar com iodobismutato de potássio diluído SR até aparecimento das manchas. Nenhuma mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* é mais intensa que a mancha obtida coma *Solução (2)* (1,0%) e não mais que uma mancha é mais intensa do que aquela obtida com a *Solução (3)* (0,5%).

Limite de apoatropina. Preparar solução a 0,1% (p/v) em ácido clorídrico 0,01 *M*. Medir a absorvância em 245 nm **(5.2.14)**, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. O valor da absorvância é de, no máximo, 0,4 (0,5%).

Hiosciamina. Dissolver 1,25 g, pesados com exatidão, em água, para volume final de 25 mL. Determinar a rotação óptica **(5.2.8)** da solução, a 25 °C. A rotação observada, em graus, multiplicada por 200 e dividida pelo comprimento do tubo polarimétrico usado, em mm, está entre –0,60° e +0,05°.

Água (5.2.20.1). No máximo, 4,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da substância. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5.)**. Dissolver cerca de 1 g da amostra dessecada, pesada com exatidão, em 50 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV e determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 67,682 mg de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Midriático e adjuvante de anestésicos gerais.

SULFATO DE ATROPINA MONOIDRATADO SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Utilizar volume da amostra equivalente a 10 mg de sulfato de atropina, adicionar 4 mL de hidróxido de sódio *M* e extrair com duas porções de 10 mL de éter etílico. Secar o extrato etéreo com sulfato de sódio anidro, filtrar, lavar com 5 mL de éter etílico e evaporar o filtrado em temperatura ambiente. Secar o resíduo sobre sílica-gel, utilizando pressão reduzida. Paralelamente, realizar o mesmo procedimento utilizando 50 mg de sulfato de atropina SQR. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de atropina SQR.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de clorofórmio, acetona e dietilamina (50:40:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): evaporar um volume da solução injetável contendo o equivalente a 5 mg de sulfato de atropina, até secura, em banho-maria. Triturar o resíduo com 1 mL de álcool etílico, deixar em repouso e utilizar o sobrenadante.

Solução (2): solução de sulfato de atropina SQR a 0,5% (p/v) em álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, secar a 105 ºC durante 20 minutos. Deixar esfriar e nebulizar com iodobismutato de potássio diluído SR. A mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em tamanho, cor e posição à mancha obtida no cromatograma com a *Solução (2)*.

C. Evaporar, até a secura, volume da solução injetável equivalente a 1 mg de sulfato de atropina. Adicionar ao resíduo 0,2 mL de ácido nítrico fumegante e evaporar até a secura em banho-maria. Forma-se resíduo amarelo. Após esfriar, adicionar 2 mL de acetona e 0,2 mL de solução de hidróxido de potássio a 3% (p/v) em álcool metílico. Desenvolve-se coloração violeta.

D. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,0 a 6,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 55,6 UE/mg de sulfato de atropina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm ou 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Tampão acetato: dissolver o equivalente a 6,8 g de acetato de sódio em água, adicionar 2,9 mL de ácido acético glacial e completar o volume com água para 1000 mL.

Fase móvel: transferir 5,1 g de hidrogenossulfato de tetrabutilamônio para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 50 mL de acetonitrila e completar o volume com *Tampão acetato*. Ajustar o pH para 5,5 ± 0,1, com hidróxido de sódio 5 *M*.

Solução amostra: transferir volume da amostra equivalente a cerca de 2 mg de sulfato de atropina para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de atropina SQR e diluir com água de modo a obter concentração equivalente a 80 µg/mL de sulfato de atropina.

Solução de resolução: diluir um volume de solução aquosa de ácido *p*-hidroxibenzoico 2,5 µg/mL com quatro volumes da *Solução padrão*.

Injetar replicatas de 100 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são 1,0 para sulfato de atropina e 1,6 para o ácido *p*-hidroxibenzoico. A resolução entre os picos do ácido *p*-hidroxibenzoico e do sulfato de atropina é, no mínimo, 2,2. Injetar replicatas de 100 µL da *Solução amostra*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos obtidos é, no máximo, 1,5%

Procedimento: injetar separadamente, 100 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE BÁRIO
Barii sulfas

$BaSO_4$; 233,39
sulfato de bário; 08162
Sal de bário do ácido sulfúrico (1:1)
[*7727-43-7*]

Contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 100,5% de $BaSO_4$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, branco, denso ou cristalino. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em solventes orgânicos. Levemente solúvel em ácidos e em soluções alcalinas.

IDENTIFICAÇÃO

A. Misturar 0,5 g da amostra, 2 g de carbonato de sódio anidro e 2 g de carbonato de potássio anidro. Aquecer a mistura em cadinho até completa fusão. Acrescentar água quente e filtrar. Acidificar o filtrado com ácido clorídrico. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

B. Lavar o resíduo obtido no teste **A.** de *Identificação* com água. Dissolver em ácido acético 5 *M*. Satisfaz às reações do íon bário **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,5 a 10,0. Determinar em suspensão aquosa da amostra a 10% (p/p).

Limite de sulfetos. Em erlenmeyer de 500 mL adicionar 10 g da amostra e 100 mL de ácido clorídrico 0,5 *M*. Fixar um papel de filtro na parte superior do erlenmeyer. Umedecer a área central do papel de filtro com 0,15 mL de acetato de chumbo SR. Ferver brandamente a mistura por 10 minutos. Qualquer escurecimento produzido no papel de filtro não é mais intenso que aquele produzido pelo padrão, contendo 5 µg de sulfeto em 100 mL de ácido clorídrico 0,5 *M* e tratado de maneira similar. No máximo, 0,00005% (0,5 ppm).

Limite de substâncias solúveis em ácido. Resfriar a mistura obtida em *Sulfetos* e adicionar água até restituir o volume inicial. Filtrar em papel de filtro previamente lavado com mistura de 10 mL de ácido clorídrico 0,5 *M* e 90 mL de água. Se necessário, filtrar novamente as primeiras porções, até obter um filtrado límpido. Evaporar 50 mL do filtrado até secura, em banho-maria, e adicionar duas gotas de ácido clorídrico e 10 mL de água quente. Filtrar novamente em papel de filtro, preparado como descrito acima e lavar o papel de filtro com 10 mL de água quente, recolhendo o filtrado em recipiente tarado. Evaporar o filtrado, juntamente com as lavagens, até secura, em banho-maria. Secar o resíduo em estufa a 105 ºC, por uma hora. No máximo, 0,3% (15 mg).

Limite de sais de bário solúveis. Adicionar 10 mL de água ao resíduo obtido em *Substâncias solúveis em ácido*. Filtrar em papel de filtro previamente lavado com 100 mL de ácido clorídrico 0,5 *M* e adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico *M*. Qualquer turbidez desenvolvida dentro de 30 minutos não é mais intensa que aquela produzida pelo padrão, contendo 50 µg de bário em 10 mL de água e 0,5 mL de ácido sulfúrico *M*, tratado de maneira similar. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Aquecer à ebulição 8,33 g da amostra com 50 mL de ácido acético 4% (v/v) por 10 minutos. Diluir para 50 mL com água e filtrar. Utilizar 12 mL do filtrado. Preparar a solução padrão utilizando a solução de chumbo (10 ppm de Pb). No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em 1 g da amostra. Incinerar em mufla a 600 °C ± 25 °C até peso constante. No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,6 g da amostra em cadinho de platina previamente tarado. Adicionar 10 g de carbonato de sódio anidro e homogeneizar. Fundir até a obtenção de líquido viscoso claro e aquecer por mais 30 minutos. Resfriar, colocar o cadinho em béquer de 500 mL, adicionar 250 mL de água, agitar e aquecer o conjunto para remover o sólido fundido. Recolher o cadinho e lavar com água, coletando as águas de lavagem no béquer. Lavar o interior do cadinho com 2 mL de ácido acético 5 *M* e, em seguida, lavar com água, coletando novamente as porções no béquer. Continuar a aquecer o béquer, sob agitação, até que o sólido fundido se desintegre. Resfriar em banho de gelo. Deixar em repouso até decantação do sólido. Filtrar o sobrenadante em papel de filtro (Whatman nº. 40 ou equivalente), evitando que o precipitado passe para o papel de filtro. Lavar o precipitado com duas porções de 10 mL de solução resfriada de carbonato de sódio anidro a 2% (p/v), agitar e aguardar a decantação do sólido. Filtrar o sobrenadante, utilizando o mesmo papel de filtro, sem transferir o precipitado. Lavar o papel de filtro com cinco porções de 1 mL de ácido clorídrico SR e, em seguida, lavar com água, recolhendo o filtrado no béquer, contendo o precipitado de carbonato de bário. Adicionar ao béquer 100 mL de água, 5 mL ácido clorídrico, 10 mL de acetato de amônio a 40% (p/v), 25 mL de dicromato de potássio a 10% (p/v) e 10 g de ureia. Cobrir o béquer com vidro de relógio e aquecer a 85 ºC por, no mínimo, 16 horas. Filtrar ainda quente, utilizando funil de vidro sinterizado de porosidade fina e previamente tarado. Transferir todo o precipitado, com auxílio de um bastão de vidro, com a ponta emborrachada. Lavar o precipitado com dicromato de potássio a 0,5% (p/v) e, em seguida, lavar com 20 mL de água. Secar a 105 ºC por duas horas, resfriar e pesar. A massa de cromato de bário obtida, multiplicada por 0,9213, equivale à massa de $BaSO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente diagnóstico para meio de contraste.

SULFATO DE CÁLCIO
Calcii sulfas

$CaSO_4$; 136,14
sulfato de cálcio; 08164
Sal de cálcio do ácido sulfúrico (1:1)
[*7778-18-9*]

$CaSO_4.2H_2O$; 172,17
sulfato de cálcio di-hidratado; 08165
Sal de cálcio do ácido sulfúrico hidratado (1:1:2)
[*10101-41-4*]

O sulfato de cálcio pode ser anidro ou di-hidratado. Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $CaSO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Agitar, durante cinco minutos, 1,5 g da amostra com 15 mL de água isenta de dióxido de carbono. Deixar em repouso durante cinco minutos e filtrar. A 10 mL do filtrado acrescentar 0,1 mL de fenolftaleína SI e 0,25 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*. Desenvolve-se coloração vermelha. Acrescentar 0,30 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. A solução torna-se incolor. Acrescentar 0,2 mL de vermelho de metila SI. Desenvolve-se coloração laranja-avermelhada.

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver, aquecendo a 50 °C durante cinco minutos, 1 g da amostra em 50 mL de ácido clorídrico a 10% (v/v). Resfriar e proceder conforme descrito em *Método visual*, utilizando 15 mL dessa solução. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar *Método I*. Dissolver 0,1 g da amostra em 8 mL de ácido clorídrico 3 *M*. Utilizar 1 mL de *Solução padrão de ferro (10 ppm Fe)*. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Misturar 2 g da amostra com 20 mL de água, adicionar 25 mL de ácido clorídrico 3 *M* e aquecer à ebulição para total dissolução da amostra. Resfriar e adicionar hidróxido de amônio até pH 7,0. Filtrar, reduzir o volume do filtrado a 25 mL e filtrar novamente, se necessário, para obter solução. No máximo, 0,001% (10 ppm)

Perda por ignição (5.2.9.2). Determinar em temperatura mínima de 250 °C, até peso constante. Para a forma di-hidratada, a perda está compreendida entre 19,0% e 23,0%. Para a forma anidra, no máximo, 1,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da amostra e dissolver em 120 mL de água. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para *Cálcio*, utilizando edetato dissódico 0,1 *M* SV. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 13,614 mg de $CaSO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

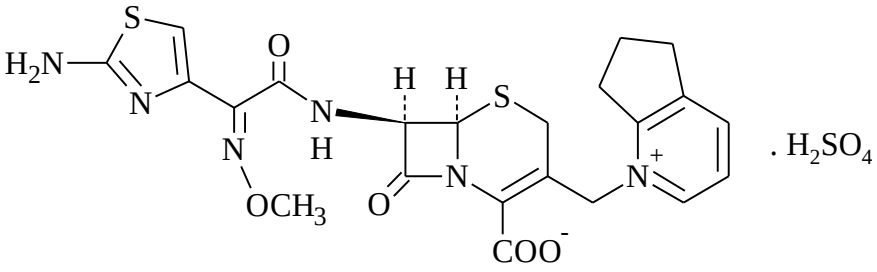
Observar legislação vigente.

CATEGORIA

Adjuvante.

SULFATO DE CEFPIROMA

Cefpiromum sulfas



$C_{22}H_{22}N_6O_5S_2.H_2SO_4$; 612,65

sulfato de cefpiroma; 01887

Sulfato de [6*R*-[6α,7β(*Z*)]]-1-[[7-[[(2-amino-4-tiazolil)(metóxi-imino)acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4,2,0]octo-2-en-3-il]metil]-6,7-diidro-5*H*-ciclopenta[b]piridinium.

[*98753-19-6*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2.H_2SO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou amarelo-pálido.

Solubilidade. Solúvel em água, em álcool etílico e em álcool metílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -27 a -32, em relação à substância anidra. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação ***A.*** *pode ser omitido se forem realizados os testes* ***B.*** *e* ***C.*** *Os testes de identificação* ***B.*** *e* ***C.*** *podem ser omitidos se for realizado o teste* ***A.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 60 °C, sob pressão reduzida, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de cefpiroma SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0015% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de sulfato de cefpiroma SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 1,6 a 2,6. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Utilizar a *Solução amostra*.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico do solvente, é, no máximo, 1,0% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,3% da área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,1 UE/mg de sulfato de cefpiroma.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, cerca de 30 mg da amostra e dissolver em ácido clorídrico 0,1 *M*. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,0015% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2.H_2SO_4$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 265 nm; coluna de 250 mm de comprimento por 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 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e álcool metílico (70:30).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 30 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: preparar uma solução a 12 µg/mL de sulfato de cefpiroma SQR em água.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2.H_2SO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 24 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, até concentrações de 0,36 µg/mL, 0,72 µg/mL e 1,44 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 24 mg de sulfato de cefpiroma SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 0,36 µg/mL, 0,72 µg/mL e 1,44 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**, utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de sulfato de cefpiroma por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura entre 2 ºC e 8 ºC.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

SULFATO DE CEFPIROMA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém sulfato de cefpiroma equivalente a, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de cefpiroma ($C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$).

IDENTIFICAÇÃO

*O teste de identificação **A.** pode ser omitido se forem realizados os testes **B.** e **C.** Os testes de identificação **B.** e **C.** podem ser omitidos se for realizado o teste **A.***

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada a 60 °C, sob pressão reduzida, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de cefpiroma SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0012% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de sulfato de cefpiroma SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar no frasco do diluente.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,5. Determinar após reconstituição da amostra com o diluente.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento*. Utilizar a *Solução amostra*.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a sob o pico do solvente é, no máximo, 1,5% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,5% da área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Água (5.2.20.1). No máximo, 2,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,1 UE/mg de cefpiroma.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar, com exatidão, o equivalente a 24 mg de cefpiroma e dissolver em ácido clorídrico 0,1 *M*. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$ no pó para solução injetável a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 265 nm; coluna de 250 mm de comprimento por 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 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e álcool metílico (70:30).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, quantidade de amostra equivalente a 25 mg de cefpiroma para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 4 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: preparar uma solução a 10 µg/mL de cefpiroma SQR em água.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefpiroma ($C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$) no pó para solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: misturar os conteúdos de 10 unidades. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de cefpiroma para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, para obter concentrações de 0,3 µg/mL, 0,6 µg/mL e 1,2 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 20 mg de cefpiroma SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, para obter concentrações de 0,3 µg/mL, 0,6 µg/mL e 1,2 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar*

(5.5.3.3.1), utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de cefpiroma por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

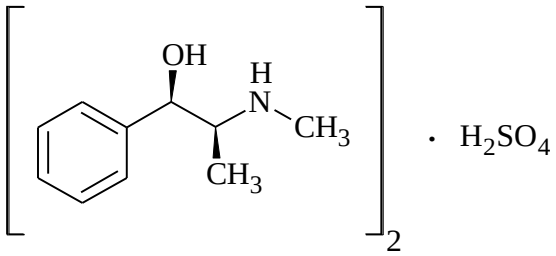
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 25 ºC.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

SULFATO DE EFEDRINA

Ephedrini sulfas



$(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$; 428,54
sulfato de efedrina; 03311
Sulfato de (*αR*)-*α*-[(1*S*)-1-(metilamino)etil] benzenometanol (1:2)
[*134-72-5*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó fino ou cristais brancos, escurece quando exposto à luz. Temperatura de fusão **(5.2.2)**: cerca de 245 °C, com decomposição.

Solubilidade. Muito solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -32 a -30, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 5% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção nos mesmos comprimidos de onda e com as mesmas intensidades relativas observadas em espectro de sulfato de efedrina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 1 g em 20 mL de água destilada e adicionar uma gota de vermelho de metila SI. Se a solução ficar vermelha ou rosa, deve mudar para amarela, pela adição de, no máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M*. Se ficar amarela, deve mudar para vermelha pela adição de, no máximo, 0,1 mL de ácido sulfúrico 0,04 *M*.

Cloretos (5.3.2.1). No máximo, 0,15% (1500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por três horas. No máximo, 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da substância. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Transferir cerca de 0,3 g da amostra, pesada com exatidão, para um funil de separação e dissolver em 10 mL de água, adicionar 3 g de cloreto de sódio e 5 mL de hidróxido de sódio *M*. Extrair com quatro porções de 25 mL de clorofórmio. Agitar os extratos clorofórmicos reunidos com 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio e filtrar através de algodão embebido com clorofórmio. Extrair a camada aquosa com 10 mL de clorofórmio e reunir ao extrato clorofórmico. Adicionar vermelho de metila SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Efetuar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 21,427 mg de $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Adrenérgico (broncodilatador).

SULFATO DE EFEDRINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Misturar 1 mL da amostra com 5 mL de álcool etílico e evaporar em banho-maria. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas observadas no espectro de sulfato de efedrina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 1,7 UE/mg de sulfato de efedrina.

DOSEAMENTO

Transferir quantitativamente o equivalente a 250 mg de sulfato de efedrina para um funil de separação. Adicionar 10 mL de água, 3 g de cloreto de sódio, 5 mL de hidróxido de sódio *M* e extrair com quatro porções de 25 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos, agitar com 10 mL da solução saturada de cloreto de sódio e filtrar através de algodão embebido com clorofórmio. Separar as fases e adicionar 10 mL de clorofórmio à fase aquosa. Reunir os extratos clorofórmicos, adicionar vermelho de metila SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV em dioxano. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 21,427 mg de $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE ESTREPTOMICINA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Sulfato de estreptomicina pó para solução injetável é o pó estéril de sulfato de estreptomicina para ser reconstituído em água para injeção. Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 115,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_{39}N_7O_{12}$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 10 mg do pó em 5 mL de água, adicionar 1 mL de hidróxido de sódio *M* e aquecer em banho-maria por cinco minutos. Esfriar e adicionar 2 mL de uma solução de sulfato férrico amoniacal a 2% (p/v) em ácido sulfúrico 0,5 *M*. Produz-se coloração violeta.

B. Dissolver 0,1 g do pó da amostra em 2 mL de água, adicionar 1 mL de uma solução de 1-naftol a 10% (p/v) em álcool etílico e 2 mL de solução aquosa de hipoclorito de sódio a 2% (p/v). Produz-se coloração avermelhada.

C. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0. Determinar após reconstituição com diluente.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 100 mg da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida (não excedendo a 5 mmHg), por três horas. No máximo, 5,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Empregar o *Método de filtração em membrana.*

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,25 UE/mg de estreptomicina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

***Nota:** para realização dos testes a seguir, utilizar amostragem mínima de 10 frascos.*

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar solução amostra e solução padrão a 0,2% (p/v) em água. Transferir 5 mL de cada solução, separadamente, para balões volumétricos de 25 mL. Adicionar a cada balão 1 mL de hidróxido de sódio *M* e aquecer por quatro minutos em banho-maria fervente. Resfriar em água gelada até a temperatura ambiente. Adicionar, a cada balão, 2 mL de solução de sulfato férrico amoniacal a 2% (p/v) em ácido sulfúrico 0,5 *M*. Completar o volume com água, homogeneizar e deixar em repouso por 10 minutos. Preparar o branco em paralelo, adicionando 5 mL de água em balão volumétrico de 25 mL e proceder conforme descrito anteriormente, a partir de "Adicionar a cada balão 1 mL...". Medir as absorvâncias das soluções em 520 nm **(5.2.14)**, utilizando o branco para ajuste do zero.

Calcular a potência em μg/mL de estreptomicina $C_{12}H_{39}N_7O_{12}$ na amostra a partir das leituras obtidas e da potência do padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, após reconstituir o conteúdo dos frascos, conforme indicado pelo produtor.

Micro-organismo: Bacillus subtilis ATCC 6633.

Solução amostra: pesar quantidade equivalente da amostra e diluir com o *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*, de forma a obter solução contendo 1 mg/mL de base. Diluir com o *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*, de modo a obter soluções nas faixas de concentração de 2,0 μg/mL, 1,0 μg/mL e 0,5 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de estreptomicina SQR em *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir sucessivamente com o *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0 (Solução 2)*, de modo a obter soluções nas faixas de concentração de 2,0 μg/mL, 1,0 μg/mL e 0,5 μg/mL.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio base número 5 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo número 5 e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular a quantidade, em mg de estreptomicina ($C_{12}H_{39}N_7O_{12}$) no pó para solução injetável, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

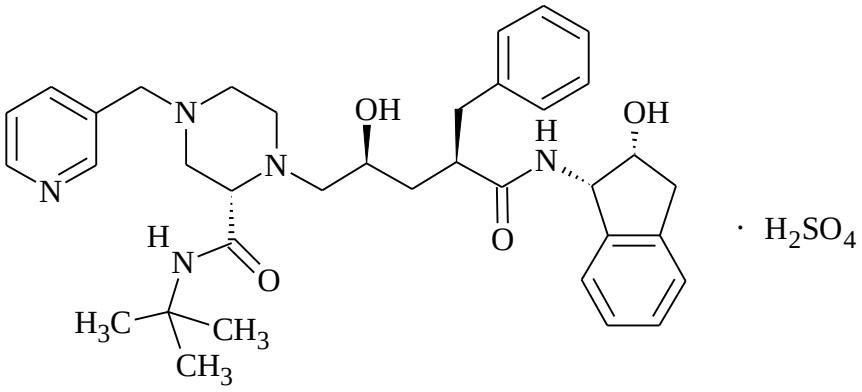
Em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da umidade e à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE INDINAVIR

Indinaviri sulfas



$C_{36}H_{47}N_5O_4.H_2SO_4$; 711,88
sulfato de indinavir; 04883
Sulfato de 2,3,5-tridesoxi-*N*-[(1*S*,2*R*)-2,3-di-hidro-2-hidroxi-1*H*-inden-1-il]-5-[(2*S*)-2-[[(1,1-dimetiletil)amino]carbonil]-4-(3-piridinilmetil)-1-piperazinil]-2-(fenilmetil)-D-eritro-pentonamida (1:1)
[*157810-81-6*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{36}H_{47}N_5O_4.H_2SO_4$ e, no mínimo, 13,2% e, no máximo, 14,4% de sulfato, em relação à substância anidra e isenta de álcool etílico.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amorfo, branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool metílico, muito pouco solúvel em acetonitrila.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 150 ºC a 154 ºC, com decomposição.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: entre +122 e +129, em solução aquosa a 1% (p/v), em relação à substância anidra e isenta de álcool etílico. Realizar a leitura a 25 °C, em comprimento de onda de 365 nm.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de indinavir SQR.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,004% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximos em 210 nm e 260 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de sulfato de indinavir SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. A solução da amostra a 0,5% (p/v) satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Conteúdo de álcool etílico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo a gás provido de detector de ionização de chama; coluna cromatográfica de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com polietilenoglicol, com espessura do filme de 0,25 μm; temperatura da coluna de 45 ºC, temperatura do injetor de 260 ºC e temperatura do detector de 280 ºC; utilizar nitrogênio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 10 mL/minuto. Ao final de cada corrida, a temperatura da coluna é aumentada para 230 ºC e mantida por 18 minutos.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 0,2 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL, dissolver em dimetilsulfóxido e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 6,5 mL de álcool etílico absoluto para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com dimetilsulfóxido e homogeneizar. Transferir 5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com dimetilsulfóxido. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de álcool etílico na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução am*ostra. Entre 5,0% e 8,0%.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 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 mL/minuto.

Eluente A: dissolver 0,54 g de fosfato de potássio monobásico e 2,79 g de fosfato de potássio dibásico em 2000 mL de água.

Eluente B: acetonitrila.

Diluente: mistura do *Eluente A* e *Eluente B* (50:50).

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 40	80 → 30	20 → 70	gradiente linear
40 – 45	30	70	isocrática
45 – 47	30 → 80	70 → 20	gradiente linear
47 – 52	80	20	isocrática

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL e dissolver em 70 mL de *Diluente*. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar, obtendo solução a 500 μg/mL.

Solução (2): preparar solução de sulfato de indinavir SQR a 500 μg/mL em *Diluente*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 4000 pratos teóricos/metro. O fator de retenção para o pico do indinavir está compreendido entre 3,0 e 6,0. O fator de cauda é, no máximo, 2,0.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução (1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Não considerar os picos relativos aos solventes. A área sob qualquer pico individual, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 0,1% da área total sob os picos obtidos. A soma das áreas sob todos os picos, exceto a sob o pico principal, é, no máximo, 0,5% da área total sob os picos obtidos.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 1,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Sulfato.

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra, transferir para béquer e dissolver em 60 mL de mistura de álcool metílico e água (50:50). Utilizar eletrodo específico para chumbo e eletrodo de referência adequado. Titular com nitrato de chumbo 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de nitrato de chumbo 0,1 *M* SV equivale a 9,604 mg de sulfato.

Sulfato de indinavir.

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 260 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à 40 ºC; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Tampão fosfato de dibutilamônio: dissolver 3 g de ácido fosfórico e 1,7 mL de dibutilamina em 900 mL de água. Ajustar o pH em 6,5 ± 0,5 com hidróxido de sódio *M*.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato de dibutilamônio* e acetonitrila (55:45).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 58 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de *Fase móvel*. Agitar mecanicamente por 15 minutos e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: preparar solução de sulfato de indinavir SQR a 0,58 mg/mL em *Fase móvel*, equivalente a 0,5 mg de indinavir por mililitro.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 4000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{36}H_{47}N_5O_4.H_2SO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antirretroviral.

SULFATO DE MAGNÉSIO
Magnesii sulfas

$MgSO_4$; 120,36
sulfato de magnésio; 08167
Sal de magnésio do ácido sulfúrico (1:1)
[*7487-88-9*]

$MgSO_4.7H_2O$; 246,47
sulfato de magnésio heptaidratado; 08168
Sal de magnésio do ácido sulfúrico hidratado (1:1:7)
[*10034-99-8*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de $MgSO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, cristalino, ou cristais incolores brilhantes.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito solúvel em água quente, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon magnésio **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 5 g da amostra em água e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* adicionar uma gota de vermelho de fenol SI. No máximo, 0,2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* ou hidróxido de sódio 0,01 *M* é necessário para mudar a cor do indicador.

Arsênio (5.3.2.5). Determinar em 15 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Proceder conforme descrito em *Método espectrofotométrico, Método I*. No máximo, 0,0002% (2 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 1,2 g da amostra. No máximo, 0,03% (300 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Determinar em 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Proceder conforme descrito em *Método I*, utilizando 10 mL de *Solução padrão de ferro (1 ppm Fe)*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). No máximo, 0,001% (10 ppm).

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por duas horas, e então incinerar em mufla a 450 ºC ± 25 °C, até peso constante. Entre 45,0% e 52,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para *Magnésio*. Pesar, com exatidão, cerca de 0,45 g da amostra. Cada mL de edetato dissódico 0,1 *M* SV equivale a 12,036 mg de $MgSO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

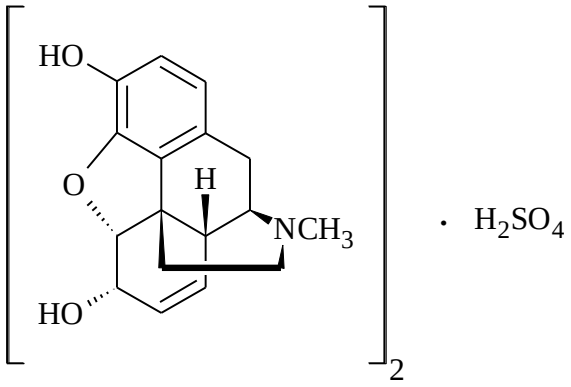
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Laxante osmótico; utilizado em terapia eletrolítica

SULFATO DE MORFINA

Morphini sulfas



$(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$; 668,76
sulfato de morfina; 06114
Sulfato de (5*α*,6*α*)-7,8-dideidro-4,5-epoxi-17-metilmorfinano-3,6-diol (1:2)
[*64-31-3*]

$(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4.5H_2O$; 758,83
sulfato de morfina pentaidratada; 09532
Sulfato de (5*α*,6*α*)-7,8-dideidro-4,5-epoxi-17-metilmorfinano-3,6-diol hidratado (1:2:5)
[*6211-15-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -107 a -110, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 2% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.**, **C.**, **D.** *e* **E**. *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A.** *Os testes de identificação* **B.**, **C.** *e* **D.** *podem ser omitidos se forem realizados os testes* **A.** *e* **E**.

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada a 145 °C por uma hora e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de morfina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 250 nm a 300 nm, da solução amostra a 0,01% (p/v) preparada em água, há máximo de absorção em 285 nm, idêntico ao espectro de solução similar de sulfato de morfina SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida no método **B.** de *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Em cápsula de porcelana, adicionar, a 1 mg da amostra, 0,5 mL de solução de formaldeído. Desenvolve-se coloração púrpura, que se torna violeta.

E. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

F. Satisfaz às reações para alcaloide **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 2% (p/v) da amostra em água é límpida.

Acidez. A 10 mL da preparação descrita em *Aspecto da preparação*, adicionar 0,05 mL de vermelho de metila SI. São necessários, no máximo, 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,02 *M* para desenvolver coloração amarela.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de amônia, acetona, álcool etílico, água e tolueno (2,5:32,5:24,5:10,5:35), como fase móvel. Aplicar à placa, separadamente, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 20 mg/mL da amostra em mistura de água e álcool etílico (1:1).

Solução (2): dissolver 25 mg de fosfato de codeína em 5 mL da *Solução (1)*, diluir 0,2 mL dessa solução para 10 mL em mistura de água e álcool etílico (1:1).

Solução (3): diluir 0,1 mL da *Solução (1)* para 20 mL, com mistura de água e álcool etílico (1:1).

Solução (4): diluir 2 mL da S*olução (3)* para 5 mL, com mistura de água e álcool etílico (1:1).

Solução (5): diluir 2 mL da S*olução (3)* para 10 mL, com mistura de água e álcool etílico (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com iodobismutato de potássio SR e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar com peróxido de hidrogênio a 3% (p/v) SR. Nenhuma mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%). Nenhuma mancha secundária obtida com a *Solução (1)* pode ser mais intensa do que a obtida com a *Solução (3)* (0,5%). No máximo, duas manchas obtidas com a *Solução (1)* podem ser mais intensas do que a obtida com a *Solução (4)* (0,2%). O teste só é válido se no cromatograma obtido com a *Solução (2)* existirem duas manchas claramente separadas e se a mancha obtida no cromatograma obtido com a *Solução (5)* estiver claramente visível.

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,2 g da amostra. Entre 10,4% e 13,4%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 120 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 66,875 mg de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 284 nm; coluna de 300 mm e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver, quantitativamente, cerca de 0,73 g de heptanossulfonato de sódio em 720 mL de água. Adicionar 280 mL de álcool metílico e 10 mL de ácido acético glacial.

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,24 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de morfina SQR na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,24 mg/mL.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. O tempo de retenção é de cerca de 6,0 minuto para o sulfato de morfina. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a sob os picos. Calcular o teor de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$ na amostra, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico opioide.

SULFATO DE MORFINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5% da quantidade declarada de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4.5H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar o equivalente a 20 mg de sulfato de morfina, adicionar 5 mL de água e agitar. Filtrar e adicionar ao filtrado 0,05 mL de cloreto férrico SR. Desenvolve-se coloração azul.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Pesar o equivalente a 10 mg de sulfato de morfina e adicionar 10 mL de água. Filtrar e adicionar, a 5 mL do filtrado, 0,15 mL de ferricianeto de potássio a 1% (p/v) e 0,05 mL de cloreto férrico SR. Desenvolve-se imediatamente coloração verde, que muda rapidamente para azul.

C. O pó triturado dos comprimidos deve satisfazer às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento.*

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,5, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Proceder como descrito no método **B.** de *Doseamento*, salvo que o volume de injeção será de 200 µL. Calcular a quantidade de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4.5H_2O$ dissolvida no meio, comparando as respostas obtidas com a da solução de sulfato de morfina SQR, na concentração de 0,0033% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no mínimo, 70% (Q) da quantidade declarada de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4.5H_2O$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool etílico a 70% (v/v), tolueno, acetona e amônia 13,5 *M* (35:35:32,5:2,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 50 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar o equivalente a 25 mg de sulfato de morfina, a fim de obter uma solução a 1 mg/mL da amostra em álcool etílico.

Solução (2): dissolver quantidade suficiente de sulfato de codeína SQR na *Solução (1),* a fim de obter uma solução de sulfato de codeína a 1 mg/mL. Retirar uma alíquota desta solução e dissolver em álcool etílico, a fim de obter uma solução de sulfato de codeína a 0,005 mg/mL.

Solução (3): transferir uma alíquota de 2 mL da *Solução (2)* e diluir em 5 mL de álcool etílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR, e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar com peróxido de hidrogênio a 3% (p/v). As manchas correspondentes à codeína e à morfina apresentam coloração cinza azulada e rosa, respectivamente. Nenhuma mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)* é mais intensa que a da codeína, obtida com a *Solução (2)* (0,5%). Nenhuma outra mancha secundária obtida é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%) e, no máximo, duas manchas são mais intensas do que a obtida com a *Solução (3)* (0,2%). O teste somente é válido se no cromatograma obtido com a *Solução (2)* existirem duas manchas claramente separadas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,1 g de sulfato de morfina para 25 mL de água e 5 mL de hidróxido de sódio *M*. Adicionar 1 g de sulfato de amônio e agitar mecanicamente até completa dissolução. Se necessário deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Adicionar 20 mL de álcool etílico e extrair com quantidades sucessivas de 40 mL, 20 mL, 20 mL e 20 mL de uma mistura de clorofórmio e álcool etílico (3:1). Lavar cada extrato com os mesmos 5 mL de água, filtrar e evaporar o solvente do filtrado. Dissolver o resíduo obtido em 10 mL de ácido clorídrico 0,05 *M* SV, ferver, resfriar e adicionar 15 mL de água. Titular o excesso de ácido clorídrico com hidróxido de sódio 0,05 *M* SV, utilizando vermelho de metila SI, como indicador. Cada mL de ácido clorídrico 0,05 *M* SV equivale a 18,971 mg de $(C_{17}\ H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4.5H_2O$ ou a 16,719 mg de $(C_{17}\ H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$.

B. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Sulfato de morfina*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de morfina na *Fase móvel,* de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de morfina SQR na *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,3 mg/mL.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. O tempo de retenção é cerca de seis minutos para o sulfato de morfina. O desvio padrão relativo para as áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a sob os picos. Calcular a quantidade de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE MORFINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4.5H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de acetona, álcool metílico e hidróxido de amônio (50:50:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em mistura de álcool metílico e água (1:1), de modo a obter solução a 0,05% (p/v).

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de morfina SQR em mistura de álcool metílico e água (1:1), de modo a obter solução a 0,05% (p/v).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra,* obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Evaporar até a secura, em banho-maria, um volume equivalente a 5 mg de sulfato de morfina. Dissolver o resíduo assim obtido em 5 mL de água e adicionar 0,15 mL de ferricianeto de potássio a 1% (p/v) e 0,05 mL de cloreto férrico SR. Desenvolve-se coloração cinza azulada, que muda rapidamente para azul.

D. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 2,5 a 6,5.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no teste de *Substâncias relacionadas* da monografia de *Sulfato de morfina comprimidos*. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas descritas a seguir.

Solução (1): diluir o volume da solução injetável em mistura de álcool etílico e água (1:1), de modo a obter uma solução de sulfato de morfina a 1% (p/v).

Solução (2): dissolver quantidade suficiente de sulfato de codeína SQR na *Solução (1)*, obtendo uma solução de sulfato de codeína a 10 mg/mL. Retirar uma alíquota dessa solução e dissolver em mistura de álcool etílico e água (1:1), obtendo uma solução de sulfato de codeína a 0,05 mg/mL.

Solução (3): retirar uma alíquota de 2 mL da *Solução (2)* e diluir em 5 mL de mistura de álcool etílico e água (1:1).

O teste só é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (2)* apresentar duas manchas nitidamente separadas. Desconsiderar qualquer mancha que possua fator de retenção (Rf) menor que 0,1.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo, 14,29 UE/mg de sulfato de morfina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Sulfato de morfina*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir volume da solução injetável equivalente a 25 mg de sulfato de morfina para balão volumétrico de 100 mL, utilizando *Fase móvel* como solvente, de modo a obter solução a 0,25 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de morfina SQR na *Fase móvel*, de modo a obter uma solução com concentração final de 0,25 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a sob os picos. Calcular a quantidade de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

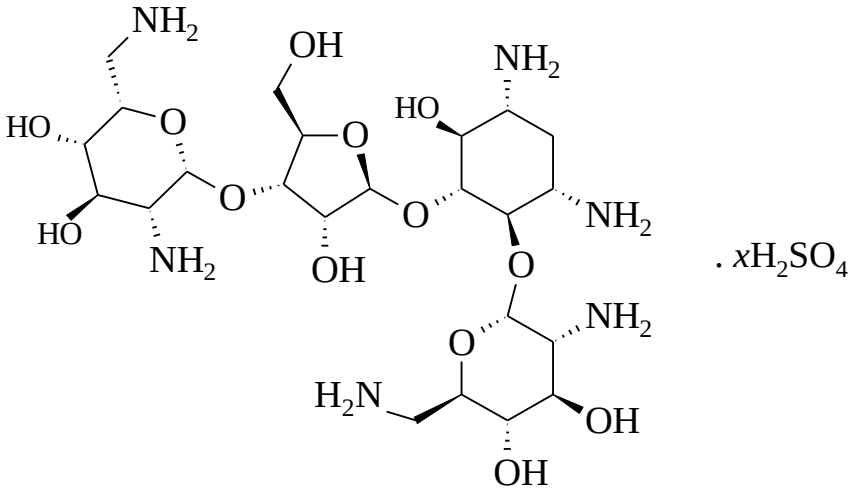
Em recipientes de vidro tipo I, em local fresco e protegido da luz. Evitar congelamento.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE NEOMICINA

Neomycini sulfas



. xH_2SO_4

$C_{23}H_{46}N_6O_{13}.xH_2SO_4$; 614,65 (base)
sulfato de neomicina; 06284
Sulfato de neomicina
[*1405-10-3*]

Sulfato de neomicina é uma mistura de sulfatos de substâncias produzidas por *Streptomyces fradiae*, sendo o seu principal componente o sulfato de 2-desoxi-4-*O*-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-*α*-D-glicopiranosil)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-diamino-2,6-didesoxi-*β*-L-idopiranosil)-*β*-Dribofuranosil]- D-estreptamina (neomicina B). Apresenta potência de, no mínimo, 600 µg/mg de neomicina, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou branco-amarelado, higroscópico.

Solubilidade. Muito solúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +53,5 a +59,0, em relação à substância dessecada. Determinar em solução aquosa a 10% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel H, como suporte, e mistura de álcool metílico, hidróxido de amônio, clorofórmio e água (6:3:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): preparar solução a 20 mg/mL da amostra em água.

Solução (2): preparar solução a 20 mg/mL de sulfato de neomicina SQR em água.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e secar ao ar quente. Nebulizar a placa com ninidrina a 1% (p/v) em álcool butílico e aquecer a 105 ºC, por dois minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade, àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. A *Solução (1)* obtida no método **A.** de *Identificação*, diluída a 5% (p/v) em água, satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 7,5. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas 1. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de cloreto de metileno, hidróxido de amônio e álcool metílico (10:20:20), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): preparar solução a 25 mg/mL da amostra em água.

Solução (2): preparar solução a 0,5 mg/mL de neamina SQR em água.

Solução (3): misturar 0,5 mL da *Solução (1)* com 0,5 mL da *Solução (2)*.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar entre 100 ºC e 105 ºC, por 10 minutos. Nebulizar com solução de cloreto estanoso e ninidrina e aquecer a 100 ºC por 15 minutos. Nebulizar novamente com a mesma solução e aquecer a 110 ºC por 15 minutos. Qualquer mancha obtida com o cromatograma da *Solução (1)*, correspondente à neamina, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (2,0%). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar duas manchas principais nitidamente separadas.

Substâncias relacionadas 2. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool metílico e cloreto de sódio 20% (p/v) (20:80), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): preparar solução a 8 mg/mL da amostra em água.

Solução (2): preparar solução a 1,2 mg/mL de sulfato de framicetina SQR em água.

Solução (3): diluir 5 mL da *Solução (2)* para 25 mL de água.

Solução (4): preparar solução a 8 mg/mL de sulfato de neomicina SQR em água.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar entre 100 ºC e 105 ºC por 10 minutos e nebulizar com ninidrina etanólica acética SR. Aquecer entre 100 ºC e 105 ºC por 15 minutos. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (4)*. A mancha com Rf menor (impureza neomicina C) do que a mancha principal não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (15,0%), mas é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução (3)* (3%). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com *Solução (4)* apresentar mancha com Rf menor que o da mancha principal.

Conteúdo de sulfato. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,25 g de amostra em 100 mL de água e ajustar para pH 11,0, com solução concentrada de amônia. Adicionar 10 mL de cloreto de bário 0,1

M SV e aproximadamente 0,5 mg de púrpura de ftaleína. Titular com edetato dissódico 0,1 *M* SV. Adicionar 50 mL de álcool etílico, quando a coloração começar a mudar, e continuar a titulação até a coloração violeta-azulada desaparecer. Efetuar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de cloreto de bário 0,1 *M* SV equivale a 9,606 mg de sulfato (SO_4). Contém, no mínimo, 27,0% e, no máximo, 31,0% de sulfato (SO_4), em relação à substância dessecada.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,1 g da amostra. Dessecar em estufa a a 60 °C, sob uma pressão que não exceda a 5 mm de mercúrio, durante três horas. No máximo, 8,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Se utilizar sulfato de neomicina estéril, a amostra cumpre os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Se empregar sulfato de neomicina, a ser esterilizado durante o processo de preparação de formas farmacêuticas parenterais, a amostra cumpre o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Empregar o *Método de filtração em membrana.*

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 1,30 UE/mg de neomicina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos* **(5.5.3.3)**, por difusão em ágar, utilizando cilindros.

Micro-organismo: Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 ou *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Meios de cultura: solução fisiológica estéril para padronização de inóculo e meio de cultura número 11 para camada base e para preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg de neomicina e transferir para balão volumétrico de 25 mL, com auxílio de *Tampão fosfato de potássio 0,1 M, estéril, pH 8,0* (*Solução 2*). Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 0,5 µg/mL, 1 µg/mL e 2 µg/mL, utilizando a *Solução 2* como diluente, quando utilizar o micro-organismo *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, ou até concentrações de 5 µg/mL, 10 µg/mL e 20 µg/mL, utilizando *Solução 2* como diluente, quando utilizar o micro-organismo *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Solução padrão: pesar, com exatidão, o equivalente a 25 mg de neomicina SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL com auxílio da *Solução 2*. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 0,5 µg/mL, 1 µg/mL e 2 µg/mL, utilizando a *Solução 2* como diluente, quando utilizar o micro-organismo *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, ou até concentrações de 5 µg/mL, 10 µg/mL e 20 µg/mL, utilizando *Solução 2* como diluente, quando utilizar o micro-organismo *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio de cultura número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 1% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico por difusão em ágar* **(5.5.3.3.1)**. Calcular o teor em µg de neomicina na amostra a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz. Quando a substância é destinada à produção de parenterais, o rótulo deve indicar se o produto é estéril ou se deve ser esterilizado durante o processo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

SULFATO DE POTÁSSIO
Kalii sulfas

K_2SO_4; 174,26
sulfato de potássio; 08171
Sal de potássio do ácido sulfúrico (2:1)
[*7778-80-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% de K_2SO_4, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Cristais incolores ou brancos ou pó cristalino, de sabor levemente salino.

Solubilidade. Solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon potássio e do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 20 mL de água. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 5,5 a 8,5. Determinar em solução a 5% (p/v).

Limite de substâncias insolúveis em água. Dissolver 10 g da amostra em 100 mL de água, em um béquer. Aquecer o béquer coberto em banho-maria até ebulição, durante uma hora. Filtrar a solução em funil tarado de média porosidade (10 μm a 15 μm) e lavar com água quente. Dessecar a 105 °C, resfriar em dessecador e pesar. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 1 g da amostra. Utilizar 1 mL de solução contendo 0,01 mg de cloreto (Cl), equivalente a 0,028 mL de ácido clorídrico padrão (HCl 0,01 *M* SV). No máximo, 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 110 °C, durante quatro horas. No máximo, 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra, previamente dessecada, aquecer com 200 mL de água e 1 mL de ácido clorídrico. Adicionar, gradualmente, 8 mL de cloreto de bário SR aquecido à

ebulição. Aquecer a mistura em banho-maria por uma hora. Recolher o precipitado e lavar com água até que a última lavagem não se turve pela adição de nitrato de prata SR. Aquecer o precipitado entre 500 °C e 600 °C, aumentando a temperatura lentamente até obter sulfato de bário. Secar até peso constante. Cada g do resíduo equivale a 0,7466 g de K_2SO_4.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

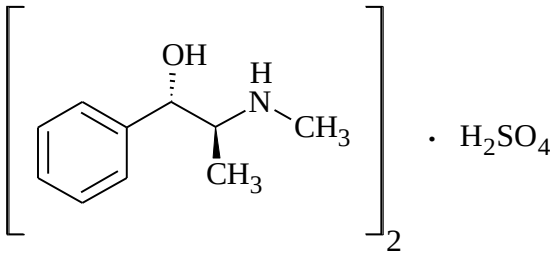
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Catártico.

SULFATO DE PSEUDOEFEDRINA

Pseudoephedrini sulfas



$(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$; 428,54
sulfato de pseudoefedrina; 07522
Sulfato de (*αS*)-*α*-[(1*S*)-1-(metilamino)etil]-benzenometanol (1:2)
[*7460-12-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**. 174 ºC a 179 ºC.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**. +56,0 a +59,0 em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 5% (p/v) em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de pseudoefedrina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,05% (p/v) em água, há máximo em 257 nm, calculado como substância dessecada, diferindo, no máximo, em 3%.

C. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,5. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Metais pesados (5.3.2.3). Tratar uma solução de 2 g da mostra em 20 mL de álcool etílico a 50% (v/v) com 5 mL de solução de hidróxido de sódio a 5% (p/v) e cinco gotas de sulfeto de sódio SR.

Utilizar *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)* no preparo do padrão. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g da amostra, em estufa a 105 ºC, sob pressão reduzida, por duas horas. No máximo, 2,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 0,15 g da amostra em 50 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 42,854 mg de sulfato de pseudoefedrina $(C_{10}H_{15}NO)_2.H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

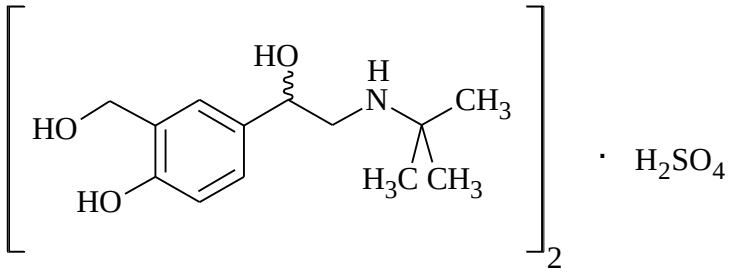
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Descongestionante.

SULFATO DE SALBUTAMOL

Salbutamoli sulfas



$(C_{13}H_{21}NO_3)_2.H_2SO_4$; 576,70
sulfato de salbutamol; 07867
Sulfato de α1-[[(1,1-dimetiletil)amino]metil]-4-hidroxi-1,3-benzenodimetanol (1:2)
[*51022-70-9*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $(C_{13}H_{21}NO_3)_2.H_2SO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de salbutamol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,008% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximo de absorção em aproximadamente 276 nm, cuja absorvância é de 0,44 a 0,51.

C. Dissolver 10 mg da amostra em 50 mL de tetraborato sódico a 2% (p/v). Adicionar 1 mL de 4-aminoantipirina a 3% (p/v), 10 mL de ferricianeto de potássio a 2% (p/v) e 10 mL de clorofórmio. Agitar e deixar separar as camadas. A camada clorofórmica desenvolve coloração vermelho-alaranjada.

D. Dissolver quantidade da amostra equivalente a 4 mg de salbutamol em 10 mL de água e filtrar. O filtrado obtido satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida **(5.2.25)**.

Acidez ou alcalinidade. Transferir 0,25 g da amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água isenta de dióxido de carbono. Adicionar a 10 mL dessa solução, 0,15 mL de

vermelho de metila SI e 0,2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M*. A solução torna-se amarela. No máximo, 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* é necessário para mudar a cor para vermelha.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de metilisobutilcetona, álcool isopropílico, acetato de etila, água e hidróxido de amônio (50:45:35:18:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 50 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em água e diluir com álcool metílico, de modo a obter solução a 20 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de sulfato de salbutamol SQR em água e diluir com álcool metílico, de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Expor aos vapores de iodo. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *solução (2)* (0,5%) e a soma das intensidades de todas as manchas secundárias presentes é, no máximo, 2,0%.

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,9 g da amostra, transferir para erlenmeyer de 250 mL e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial, com aquecimento. Adicionar duas gotas de azul de oracet B SI e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 57,670 mg de $(C_{13}H_{21}NO_3)_2.H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiasmático.

SULFATO DE SALBUTAMOL COMPRIMIDOS

Contém sulfato de salbutamol equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$).

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 2,5 mg de salbutamol com 50 mL de tetraborato sódico a 2% (p/v). Adicionar 1 mL de 4-aminoantipirina a 3% (p/v), 10 mL de ferricianeto de potássio a 2% (p/v) e 10 mL de clorofórmio. Agitar e deixar separar as camadas. A camada clorofórmica desenvolve coloração vermelho-alaranjada.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 4 mg de salbutamol. Dissolver em 10 mL de água e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 500 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, acidificar com algumas gotas de ácido acético a 1% (v/v) e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução padrão: transferir quantidade de sulfato de salbutamol SQR, equivalente a 20 mg de salbutamol, para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de ácido acético a 1% (v/v). Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e completar o volume com água. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 4 µg de salbutamol por mililitro.

Injetar, separadamente, 100 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de metilisobutilcetona, álcool isopropílico, acetato de etila, água e hidróxido de amônio (50:45:35:18:3), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 48 mg de salbutamol para recipiente apropriado. Adicionar 60 mL de mistura de álcool etílico e água (1:2) e, agitar mecanicamente por 30 minutos. Filtrar. Evaporar o filtrado até secura sob pressão reduzida em temperatura abaixo de 40 °C. Dissolver completamente o resíduo em 2 mL de água.

Solução (2): dissolver quantidade de sulfato de salbutamol SQR em água, para obter solução a 0,580 mg/mL, equivalente a 0,483 mg de salbutamol por mililitro.

Solução (3): dissolver quantidade de sulfato de salbutamol SQR em água, para obter solução a 0,218 mg/mL, equivalente a 0,183 mg de salbutamol por mililitro.

Solução (4): dissolver quantidade de sulfato de salbutamol SQR em água, para obter solução a 73 µg/mL, equivalente a 61 µg de salbutamol por mililitro.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de cloridrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona a 0,1% (p/v) em mistura de álcool metílico e água (9:1). Em seguida nebulizar com ferricianeto de potássio amoniacal e, novamente, com a solução de cloridrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona. Qualquer mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é, no máximo, em tamanho ou intensidade, igual à mancha obtida com a *Solução (2)* (2%). Qualquer outra mancha secundária obtida com a *Solução (1)* é, no máximo, em tamanho e intensidade, igual à mancha principal obtida com a *Solução (3)* (0,75%). Não mais que duas manchas secundárias são iguais em tamanho e intensidade que as manchas obtidas com a *Solução (4)* (0,5%) A soma das intensidades de todas manchas secundárias obtidas na *Solução (1)* deve ser, no máximo, 3,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 276 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Solução de hexanossulfonato de sódio: dissolver 0,95 g de 1-hexanossulfonato de sódio em 1000 mL de água. Adicionar 10 mL de ácido acético e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Solução de hexanossulfonato de sódio* e álcool metílico (60:40).

Diluente: mistura de ácido acético a 1% (v/v) e álcool metílico (60:40).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 6 mg de salbutamol para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 150 mL de *Diluente*. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Agitar mecanicamente por 45 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 30 µg/mL. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir quantidade de sulfato de salbutamol SQR, equivalente a 12 mg de salbutamol, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 60 mL de *Diluente* e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 25 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente obtendo solução a 30 µg de salbutamol por mililitro. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 800 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE SALBUTAMOL SOLUÇÃO ORAL

Contém sulfato de salbutamol equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$). Contêm agentes conservantes e edulcorantes. A solução oral pode conter açúcar.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no visível **(5.2.14)**, na faixa de 400 nm a 800 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo em 605 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

B. A um volume de solução oral equivalente a 10 mg de salbutamol, adicionar 50 mL de tetraborato sódico a 2% (p/v) em água. Prosseguir conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia de *Sulfato de salbutamol*.

C. Utilizar volume da solução oral equivalente a 4 mg de salbutamol. Dissolver em 10 mL de água e filtrar. O filtrado satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,3 a 5,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Proteger as soluções da luz. Transferir volume da solução oral, equivalente a 8 mg de salbutamol, para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de água. Deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para funil de separação de 250 mL contendo 80 mL de água. Adicionar 4 mL de bicarbonato de sódio a 5% (p/v), 4 mL de sulfato de *N*,*N*-dimetil-*p*-fenilenodiamina a 0,1% (p/v) e 4 mL de ferricianeto de potássio a 8% (p/v). Agitar e deixar em repouso por 20 minutos, na ausência de luz. Extrair com duas porções de 10 mL de clorofórmio, recolher os extratos em balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo procedimento. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 605 nm, utilizando clorofórmio para ajuste do zero. Calcular a quantidade de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) na solução oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 276 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Solução de hexanossulfonato de sódio: dissolver 0,95 g de 1-hexanossulfonato de sódio em 1000 mL de água. Adicionar 10 mL de ácido acético e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Solução de hexanossulfonato de sódio* e álcool metílico (60:40).

Diluente: mistura de ácido acético a 1% (v/v) e álcool metílico (60:40).

Solução amostra: transferir volume da solução oral equivalente a 6 mg de salbutamol para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 150 mL de *Diluente*. Agitar. Completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 30 μg de salbutamol por mililitro. Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: transferir quantidade de sulfato de salbutamol SQR, equivalente a 12 mg de salbutamol, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 60 mL de *Diluente* e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 25 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente obtendo solução a 30 μg de salbutamol por mililitro. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 800 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE SÓDIO

Natrii sulfas

Na_2SO_4; 142,04
sulfato de sódio; 08173
Sal de sódio do ácido sulfúrico (2:1)
[*7757-82-6*]

$Na_2SO_4.10H_2O$; 322,19
sulfato de sódio decaidratado; 09841
Sal de sódio do ácido sulfúrico decaidratado (2:1:10)
[*7727-73-3*]

Contém, no mínimo 98,5% e, no máximo, 101,0% de Na_2SO_4, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais transparentes incolores. Higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução da amostra a 5% (p/v) em água satisfaz às reações para o íon sulfato **(5.3.1.1)**.

B. A solução da amostra a 5% (p/v) em água satisfaz às reações para o íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. A 10 mL de uma solução contendo o equivalente a 1 g de Na_2SO_4 em 20 mL de água, adicionar uma gota de azul de bromotimol SI. São necessários, no máximo, 0,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* ou 0,5 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* para mudar a cor da solução.

Cloreto (5.3.2.1). No máximo, 0,02% (200 ppm) para o sulfato de sódio decaidratado e, no máximo, 0,045% (450 ppm) para o sulfato de sódio.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,001% (10 ppm) para o sulfato de sódio decaidratado e, no máximo, 0,00225% (22,5 ppm) para o sulfato de sódio.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Dessecar a 105 °C por quatro horas. Para o sulfato de sódio decaidratado, a perda está compreendida entre 51,0% e 57,0%. Para o sulfato de sódio, no máximo, 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar o equivalente a 0,4 g da amostra anidra ou dessecada, dissolver em 200 mL de água e adicionar 1 mL de ácido clorídrico. Aquecer até ebulição e, gradualmente, adicionar pequenas porções, com agitação constante, de uma solução em excesso de cloreto de bário a 12% (p/v) (cerca de 8 mL). Aquecer a mistura em banho-maria por uma hora. Deixar decantar, filtrar o precipitado e lavar com água, até que as águas de lavagem estejam livres de cloreto. Secar, calcinar e pesar. A massa de sulfato de bário obtida, multiplicada por 0,6086, representa o equivalente de Na_2SO_4.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, com temperatura não superior a 30 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Laxante.

SULFATO DE ZINCO
Zinci sulfas

$ZnSO_4$; 161,44
sulfato de zinco; 08174
Sulfato de zinco
[*7733-02-0*]

$ZnSO_4.H_2O$; 179,45
sulfato de zinco monoidratado; 08175
Sulfato de zinco monoidratado
[*7446-19-7*]

$ZnSO_4.7H_2O$; 287,54
sulfato de zinco heptaidratado; 09533
Sulfato de zinco heptaidratado
[*7446-20-0*]

Sulfato de zinco contém uma, seis ou sete moléculas de água de hidratação. A forma monoidratada contém, no mínimo, 89,0% e, no máximo, 90,4% de $ZnSO_4$, correspondendo a, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $ZnSO_4.H_2O$. A forma heptaidratada contém, no mínimo, 55,6% e, no máximo, 61,0% de $ZnSO_4$**,** correspondendo a, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 108,7% de $ZnSO_4.7H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a quase branco ou pó cristalino transparente, eflorescente.

Solubilidade. Muito solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico

IDENTIFICAÇÃO

A. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

B. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon zinco **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 5% (p/v) é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.9.1). 4,4 a 5,6. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Acidez. Uma solução contendo o equivalente a 28 mg de $ZnSO_4$ por mL não desenvolve coloração rósea em presença de alaranjado de metila SI.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método espectrofotométrico, Método I*. Dissolver quantidade equivalente da amostra a 215 mg de $ZnSO_4$ em 35 mL de água. No máximo, 0,0014% (14 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 5,5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, diluídos em balão de 25 mL. No máximo, 0,03% (300 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Determinar em 2,0 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo, 0,01% (100 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** para zinco. Determinar em 200 mg da amostra. Efetuar ensaio em branco e fazer as correções necessárias.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos, hermeticamente fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Matéria-prima para preparações adstringentes, suplemento de zinco e para aplicações em ensaios analíticos.

SULFATO FERROSO
Ferrosi sulfas

$FeSO_4$; 151,91
sulfato ferroso; 08176
Sal de ferro (2^+) do ácido sulfúrico (1:1)
[*7720-78-7*]

Contém, no mínimo, 86,0% e, no máximo, 90,0% de $FeSO_4$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco a amarelo-acinzentado.

Solubilidade. Solúvel em água, insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon ferroso **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Manganês. Dissolver 1 g da amostra em 40 mL de água, adicionar 10 mL de ácido nítrico e ferver até cessar a liberação de fumaça vermelha. Adicionar 0,5 g de peroxidissulfato de amônio e ferver por 10 minutos. Eliminar qualquer coloração rósea eventualmente formada, adicionando, gota a gota, sulfito de sódio a 5% (p/v). Aquecer à ebulição até desaparecimento do odor de dióxido de enxofre. Adicionar 10 mL de água, 5 mL de ácido fosfórico e 0,5 g de periodato de sódio, aquecer à ebulição por um minuto e esfriar à temperatura ambiente. A solução obtida não é mais intensamente colorida do que a solução padrão preparada nas mesmas condições, utilizando 1 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* SV e as mesmas quantidades de reagentes.

Sulfato básico. Dissolver 2 g da amostra em mistura de 7,5 mL de água isenta de dióxido de carbono e 0,5 mL de ácido sulfúrico 0,5 *M*. A preparação é levemente turva.

Limite de substâncias insolúveis. Dissolver 2 g da amostra em 20 mL de ácido sulfúrico a 1% (v/v), aquecer até ebulição e deixar em banho-maria, em béquer coberto, por uma hora. Filtrar e lavar com ácido sulfúrico a 1% (v/v). Secar o filtro a 105 ºC. No máximo, 1 mg de resíduo (0,05%).

Limite de íon férrico. Dissolver, em erlenmeyer com tampa, 5 g da amostra em mistura de ácido clorídrico e água isenta de dióxido de carbono (1:10) e adicionar 3 g de iodeto de potássio. Tampar o frasco e deixar em repouso, protegido da luz, por cinco minutos. Titular o iodo liberado com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, utilizando 0,5 mL de amido SI como indicador, adicionado próximo ao final da titulação. Preparar ensaio em branco, omitindo a adição da amostra. A diferença entre as titulações representa a quantidade de iodo liberada pelo íon férrico. No máximo, 4,5 mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV são gastos (0,5%).

Limite de cobre. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método II*. Transferir 2 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em ácido nítrico a 5% (v/v) e completar o volume com o mesmo solvente. Paralelamente, transferir 0,393 g de sulfato cúprico pentaidratado para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em água e completar o

volume com o mesmo solvente, obtendo solução padrão de cobre (1000 ppm Cu). Diluir essa solução em ácido nítrico a 5% (v/v), de modo a obter as soluções padrão. Medir as absorvâncias das soluções em 324,7 nm. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Limite de zinco. A 5 mL da solução teste obtida em *Metais pesados*, adicionar 1 mL de ferrocianeto de potássio SR, diluir para 13 mL com água e deixar em repouso por cinco minutos. Qualquer turbidez produzida não é mais intensa que aquela obtida pela mistura de 10 mL de solução padrão de zinco (10 ppm Zn), 2 mL de ácido clorídrico 7 *M* e 1 mL de ferrocianeto de potássio SR. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água e 15 mL de ácido clorídrico-estanho SR. Destilar 20 mL dessa solução. Ao destilado, adicionar 0,15 mL de água de bromo SR, remover o excesso de bromo com 0,15 mL de cloreto de estanho(II) SR e diluir para 75 mL, com água. Utilizar 25 mL da solução obtida e proceder conforme descrito em *Método visual*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 7 *M*, adicionar 2 mL de peróxido de hidrogênio concentrado e ferver, até que o volume seja reduzido para 5 mL. Deixar esfriar, diluir com ácido clorídrico 7 *M* para 20 mL e extrair com três porções de 20 mL de mistura de metilisobutilcetona, recentemente destilada, e ácido clorídrico 7 *M* (100:1). Deixar em repouso, separar a fase aquosa e evaporar até metade do volume. Deixar esfriar e diluir para 25 mL, com água, obtendo a solução teste. Neutralizar 7,5 mL da solução teste com amônia SR e diluir para 15 mL com água. Utilizar 12 mL dessa solução e proceder conforme descrito em *Método I*. No máximo, 0,005% (50 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,5 g da amostra em mistura de água e ácido sulfúrico *M* (30:20). Titular com sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV, utilizando ferroína SI como indicador. Cada mL de sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV equivale a 15,191 mg de $FeSO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antianêmico.

SULFATO FERROSO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade especificada de $FeSO_4.7H_2O$. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar a quantidade do pó equivalente a 0,1 g de ferro elementar com 20 mL de água e filtrar. Satisfaz às reações do íon ferroso **(5.3.1.1)**.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar a quantidade do pó equivalente a 0,1 g de ferro elementar com 20 mL de ácido clorídrico SR e filtrar. Satisfaz às reações do íon sulfato. **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir uma quantidade de pó equivalente a 0,5 g de sulfato ferroso para um béquer contendo uma mistura de 20 mL de ácido sulfúrico *M* e 80 mL de água, recentemente fervida e resfriada. Filtrar imediatamente a solução. Lavar o filtro e o precipitado com pequenas porções da mistura. Reunir o filtrado e as águas de lavagem, adicionar ortofenantrolina SI e titular imediatamente com sulfato cérico 0,1 *M* SV. Cada mL de sulfato cérico 0,1 *M* equivale a 27,801 mg de sulfato ferroso heptaidratado ($FeSO_4.7H_2O$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo, devem estar especificadas as quantidades de sulfato ferroso ($FeSO_4$) e de ferro elementar (Fe) por comprimido.

SULFATO FERROSO HEPTAIDRATADO

Ferrosi sulfas heptahydricus

$FeSO_4.7H_2O$; 278,01
Fe; 55,85
sulfato ferroso heptaidratado; 08177
Sal de ferro (2^+) do ácido sulfúrico heptaidratado (1:1:7)
[*7782-63-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 105,0% de $FeSO_4.7H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino verde claro ou cristais verde-azulados, florescentes ao ar seco. Oxida-se rapidamente em contato com ar úmido, formando sulfato férrico básico amarelo-amarronzado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon ferroso **(5.3.1.1)**.

B. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 2,5 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico *M* e diluir para 50 mL com água. A preparação obtida não é mais opalescente que a *Suspensão de referência II* **(5.2.25)**.

pH (5.2.19). 3,0 a 4,0. Determinar em solução da amostra a 5% (p/v), em água isenta de dióxido de carbono.

Limite de íon férrico. Transferir 5 g da amostra para erlenmeyer com tampa e dissolver com mistura de 10 mL de ácido clorídrico e 100 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar 3 g de iodeto de potássio, tampar e deixar em repouso ao abrigo da luz por cinco minutos. Titular o iodo liberado com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV utilizando, como indicador, 0,5 mL de amido SI, que é adicionado próximo ao ponto final. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. No máximo, 4,5 mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV são gastos na titulação (0,5%).

Limite de manganês. Dissolver 1 g da amostra em 40 mL de água, adicionar 10 mL de ácido nítrico e aquecer à ebulição até o desprendimento de vapores vermelhos. Adicionar 0,5 g de peroxidissulfato de amônio e aquecer à ebulição por 10 minutos. Eliminar qualquer coloração rósea que eventualmente se forme, adicionando, gota a gota, solução de sulfito de sódio a 5% (p/v). Aquecer à ebulição até desaparecimento do odor de dióxido de enxofre. Adicionar 10 mL de água, 5 mL de ácido fosfórico e 0,5 g de periodato de sódio, aquecer à ebulição por um minuto e esfriar à temperatura ambiente. A solução obtida não é mais intensamente colorida do que padrão, preparado nas mesmas condições, utilizando 1 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* SV e as mesmas quantidades de reagentes (0,1%).

Limite de zinco. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico SR, adicionar 2 mL de peróxido de hidrogênio concentrado e aquecer à ebulição até reduzir o volume para 5 mL. Esfriar, diluir para 20 mL com ácido clorídrico SR, transferir para funil de separação e agitar por três minutos com três porções de 20 mL de metilisobutilcetona saturada com ácido clorídrico (preparada agitando 100 mL de metilisobutilcetona recém destilada com 1 mL de ácido clorídrico SR). Deixar em repouso, separar a camada aquosa e, em banho-maria, reduzir seu volume à metade. Esfriar, transferir quantitativamente para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. A 5 mL desta solução, adicionar 1 mL de ferrocianeto de potássio SR e diluir para 13 mL com água. Depois de cinco minutos, qualquer turbidez desenvolvida não é mais intensa do que aquela produzida pela mistura de 10 mL de solução padrão de zinco (10 ppm Zn), 2 mL de ácido clorídrico SR e 1 mL de ferrocianeto de potássio SR. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). Transferir 1 g da amostra para balão de fundo redondo de 100 mL, provido de sistema de destilação. Adicionar 40 mL de ácido sulfúrico 4,5 *M*, 2 mL de brometo de potássio a 30% (p/v) e conectar imediatamente o balão ao sistema de destilação. Adicionar pérolas de vidro, aquecer o balão em chama branda até dissolução da amostra e destilar até obter 25 mL de destilado. Transferir o destilado para frasco gerador de arsina e lavar o condensador e demais partes do sistema de destilação com pequenas porções de água, acrescentando as águas de lavagem ao frasco gerador de arsina. Agitar o frasco com movimentos circulares, adicionar água de bromo SR até obter coloração ligeiramente amarelada e diluir com água a 35 mL. Proceder conforme descrito em *Método espectrofotométrico, Método I*. No máximo, 0,0003% (3 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 1,2 g da amostra, utilizando 1 mL de ácido clorídrico padrão (HCl 0,01 *M* SV), para o preparo do padrão. No máximo, 0,03% (300 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2 g da amostra em mistura de 1 mL de ácido sulfúrico SR e 40 mL de água. Adicionar 0,05 g de cloridrato de hidroxilamina e aquecer à ebulição por um minuto. Resfriar à temperatura ambiente, transferir quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL com auxílio de água e completar o volume com o mesmo solvente *(Solução A)*. Transferir 15 mL da *Solução A* para tubo de Nessler de 50 mL e ajustar o pH entre 3,0 e 4,0, com hidróxido de amônio 6 *M* ou ácido acético *M*. Adicionar 2 mL de tampão acetato pH 3,5, diluir com água para 40 mL e homogeneizar. Para o preparo do padrão, transferir 15 mL da *Solução A* para tubo de Nessler de 50 mL, diluir para 25 mL com água, ajustar o pH entre 3,0 e 4,0 com hidróxido de amônio 6 *M* ou ácido acético *M*, adicionar 2 mL de tampão acetato pH 3,5, 3 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)*, diluir para 40 mL com água e homogeneizar. Adicionar ao padrão e à amostra 1,2 mL de tioacetamida, completar os volumes com água e homogeneizar. Deixar em repouso por dois minutos. Observar os tubos de cima para baixo, sobre fundo branco. Qualquer coloração castanha desenvolvida na preparação amostra não é mais intensa que a desenvolvida na preparação padrão. No máximo, 0,005% (50 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,5 g da amostra em mistura de 25 mL de ácido sulfúrico *M* e 25 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar duas gotas de ferroína SI e titular imediatamente com sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV até viragem de laranja-avermelhada para

verde pálida. Cada mL de sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV equivale a 27,801 mg de sulfato ferroso heptaidratado ($FeSO_4.7H_2O$) e a 5,585 mg de ferro elementar (Fe).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antianêmico.

SULFATO FERROSO SOLUÇÃO ORAL

Contém sulfato ferroso heptaidratado equivalente a, no mínimo, 94,0% e, no máximo, 106,0% da quantidade declarada de ferro elementar (Fe).

IDENTIFICAÇÃO

A. Satisfaz às reações do íon ferroso **(5.3.1.1)**.

B. Satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 1,8 a 5,3.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Transferir volume da solução oral, medido com exatidão, equivalente a cerca de 0,125 g de ferro elementar (Fe) para erlenmeyer, adicionar 80 mL de água isenta de dióxido de carbono e 20 mL de ácido sulfúrico *M*. Adicionar duas gotas de ferroína SI e titular imediatamente com sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV até viragem de laranja-avermelhada para verde pálida. Cada mL de sulfato cérico amoniacal 0,1 *M* SV equivale a 5,585 mg de ferro elementar (Fe).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados. Proteger da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo devem estar especificadas as quantidades de sulfato ferroso heptaidratado ($FeSO_4.7H_2O$) e de ferro elementar (Fe) por mililitro da solução oral.

SULFETO DE SELÊNIO
Selenii disulfidum

SeS_2; 143,09
Se; 78,97
sulfeto de selênio; 08182
Sulfeto de selênio
[*7488-56-4*]

Contém, no mínimo, 52,0% e, no máximo, 55,5% de selênio (Se).

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó laranja ou castanho-avermelhado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e praticamente insolúvel em solventes orgânicos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Ferver 50 mg de amostra com 5 mL de ácido nítrico por 30 minutos. Diluir a 50 mL com água e filtrar. Para cada 5 mL do filtrado, adicionar 10 mL de água e 5 g de ureia. Aquecer até fervura, deixar esfriar e adicionar 2 mL de solução de iodeto de potássio a 0,8% (p/v). Uma coloração amarela é produzida e escurece rapidamente (presença de selênio). Essa solução é utilizada para o teste **B.** de *Identificação*.

B. Deixar a solução obtida no teste **A.** de *Identificação* em repouso por 10 minutos e filtrar. O filtrado obtido satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de compostos de selênio solúveis. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**.

Solução amostra: pesar 10 g de amostra, adicionar 100 mL de água e homogeneizar. Deixar sob agitação constante por uma hora e filtrar. Para cada 10 mL do filtrado, adicionar 2 mL de ácido fórmico, completar para 50 mL com água e ajustar o pH em 2,5 ± 0,5 com ácido fórmico. Adicionar 2 mL de 3,3'-tetraidrocloreto de diaminobenzidina SR. Deixar em repouso por 45 minutos e ajustar o pH entre 6,5 ± 0,5 com amônia 6 *M*. Agitar a solução por um minuto com 10 mL de tolueno e permitir a separação das fases. Descartar a fase aquosa.

Solução padrão: utilizar 10 mL de uma solução de ácido selenioso contendo 0,5 µg/mL de selênio. Proceder conforme a preparação da solução amostra, a partir da adição de 2 mL de ácido fórmico.

Determinar as absorvâncias da *Solução padrão* e da *Solução amostra* em 420 nm. Utilizar branco com a mesma composição da solução amostra. A absorvância da *Solução amostra* não é maior que a da *Solução padrão*. No máximo, 0,0005% (5 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra, adicionar 25 mL de ácido nítrico fumegante e aquecer em banho-maria por uma hora. Deixar esfriar, transferir para um balão volumétrico de 250 mL contendo 100 mL de água e completar para o volume de 250 mL com água. Transferir 50 mL da solução, adicionar 25 mL de água, 10 g de ureia e aquecer até fervura. Deixar esfriar, adicionar 3 mL de amido SI, 10 mL de solução de iodeto de potássio a 10% (p/v) e titular imediatamente com solução volumétrica de tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV. Realizar prova em branco. Cada mL de tiossulfato de sódio 0,1 *M* equivale a 1,974 mg de Se.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

SULFITO DE SÓDIO
Natrii sulfis

Na_2SO_3; 126,04
sulfito de sódio; 08187
Sal de sódio do ácido sulfuroso (2:1)
[*7757-83-7*]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 100,5% de Na_2SO_3.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

B. A solução a 0,9% (p/v) satisfaz às reações do íon sulfito **(5.3.1.1)**.

C. Dissolver 5 g da amostra em água e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. A uma alíquota de 5 mL adicionar 0,5 mL de iodo 0,05 *M*. A solução resultante é incolor e satisfaz às reações do íon sulfato **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 10 g da amostra em 25 mL de água e adicionar cuidadosamente 15 mL de ácido clorídrico. Aquecer até fervura. Resfriar e completar o volume para 100 mL com água. A preparação obtida é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

Limite de selênio. A 3 g de amostra, adicionar 10 mL de solução de formaldeído e, cuidadosamente, 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria por 20 minutos. Caso desenvolva-se coloração rósea, essa não deve ser mais intensa que a de uma solução padrão preparada, simultaneamente e nas mesmas condições, com 1 g da amostra adicionada de 0,2 mL de solução padrão de selênio (100 ppm Se). No máximo, 0,001% (10 ppm).

Tiossulfatos. Dissolver 2 g da amostra com 100 mL de água. Adicionar 10 mL de solução de formaldeído e 10 mL de ácido acético. Aguardar cinco minutos. Adicionar 0,5 mL de amido SI e titular com iodo 0,05 *M* SV. Realizar ensaio em branco. A diferença entre os volumes gastos nas titulações é, no máximo, 0,15 mL.

Zinco. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**, utilizar o *Método I*. No máximo, 0,0025% (25 ppm).

Solução amostra: diluir 2 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* a 10 mL com água.

Soluções de referência: preparar as soluções de referência utilizando solução padrão de zinco (100 ppm Zn), diluindo com água, quando necessário.

Medir a absorvância em 213,9 nm, utilizando lâmpada de catodo-oco como fonte de radiação e chama de ar-acetileno.

Ferro (5.3.2.4). Utilizar o *Método I*. Determinar em 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro*, empregando 0,1 mL de *Solução padrão de ferro (100 ppm de Fe)*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Transferir 20 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para tubo de Nessler de 50 mL. Completar o volume a 25 mL com água e proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra e transferir para erlenmeyer contendo 50 mL de iodo 0,05 *M* SV. Agitar até completa dissolução. Titular o excesso de iodo com tiossulfato de sódio 0,1 *M* SV, utilizando 1 mL de amido SI, como indicador. Realizar ensaio em branco. Cada mL de iodo 0,05 *M* SV equivale a 6,302 mg de Na_2SO_3.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

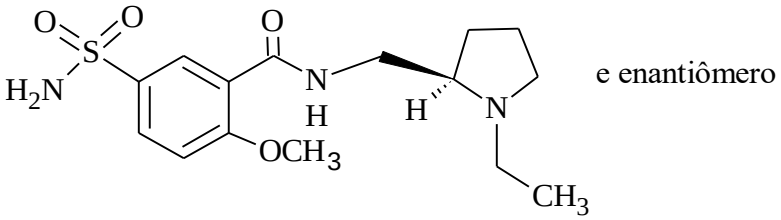
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Antioxidante.

SULPIRIDA
Sulpiridum



$C_{15}H_{23}N_3O_4S$; 341,43
sulpirida; 08210
(RS)-5-(Aminossulfonil)-N-[(1-etil-2-pirrolidinil)metil]-2-metoxibenzamida
[*15676-16-1*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de ácidos minerais e soluções de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 177 °C a 181 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulpirida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, quando observada sob lâmpada UV a 254 nm, corresponde em posição e intensidade à mancha principal obtida com a *Solução (3)*.

C. Dissolver 1 mg da amostra em 0,5 mL de ácido sulfúrico e 0,05 mL de formaldeído. Apresenta intensa fluorescência azul, quando observada sob luz ultravioleta em 365 nm.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1,0 g da amostra em 10 mL de ácido acético glacial. A preparação é límpida **(5.2.25)** e sua coloração tem intensidade máxima igual à *Solução Padrão de cor F* **(5.2.12)**.

Substâncias relacionadas 1. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando placa de sílica gel F_{254} como suporte e mistura de amônia, dioxano, álcool metílico e cloreto de metileno (2:10:14:90) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em álcool metílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. Deixar em banho de ultrassom até completa dissolução e homogeneizar.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com álcool metílico e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 20 mg de sulpirida SQR em álcool metílico, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (4): dissolver 5 mg de sulpirida impureza A em álcool metílico, diluir para 25 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (5): diluir 1 mL da *Solução (4)* para 10 mL com álcool metílico e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma em 10 cm de placa. Secar a placa a temperatura ambiente. Observar sob lâmpada UV a 254 nm para o teste **B.** de *Identificação*. Nebulizar com solução de ninidrina SR, aquecer a 100 °C até 105 °C por 15 minutos e examinar. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, qualquer mancha correspondente à impureza A não é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (5)* (0,1%).

Substâncias relacionadas 2. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada agrupo octilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato de potássio monobásico pH 3,3: pesar, com exatidão, cerca de 6,8 g de fosfato de potássio monobásico e 1 g de octanosulfonato de sódio, diluir em 1000 mL de água e ajustar o pH em 3,3 com auxílio de ácido fosfórico R.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico pH 3,3, acetonitrila e álcool metílico (80:10:10).

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (2): transferir 3 mL da *Solução amostra* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de sulpirida SQR e 10 mg de sulpirida impureza B para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 μL da *Solução (3)*. A resolução entre os picos da impureza B e da sulpirida, na *Solução (3)*, é maior que 2,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O somatório das áreas sob os picos referentes às impurezas obtidas no cromatograma da *Solução (1)* é, no máximo, igual à área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,3%).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,0 g da amostra em 20 mL de água. Filtrar em filtro de vidro com porosidade entre 16 e 40 μm. Pipetar 10 mL do filtrado e diluir para 15 mL com água. A solução satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Incinerar 1,0 g da amostra. Adicionar 1 mL de ácido clorídrico *M*, 3 mL de água e 0,1 mL de ácido nítrico. Aquecer em banho-maria por alguns minutos. Transferir a solução para um tubo de ensaio. Lavar o recipiente com 4 mL de água e transferir para o tubo de ensaio, diluir para 10 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro, Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,25 g da amostra em 80 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 34,143 mg de $C_{15}H_{23}N_3O_4S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

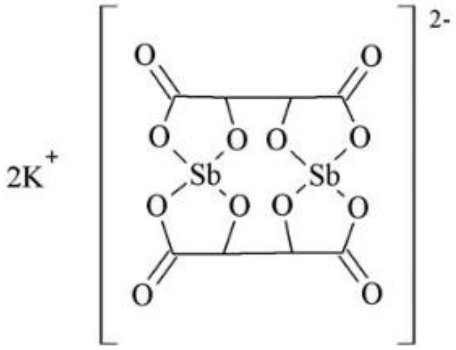
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antagonista do receptor da dopamina; neuroléptico.

TARTARATO DE ANTIMÔNIO E POTÁSSIO



$C_8H_4K_2O_{12}Sb_2$; 613,82
tartarato de antimônio e potássio; 00352
bis[μ-[(2*R*,3*R*)-2,3-Di(hidroxi-κO)butanodioato(4-)-κO1:κO4]]di-antimonato(2-) de potássio (2:2:2)
[*11071-15-1*]

$C_8H_4K_2O_{12}Sb_2.3H_2O$; 667,87
tartarato de antimônio e potássio sesqui-hidratado; 11395
bis[μ-[(2*R*,3*R*)-2,3-Di(hidroxi-κO)butanodioato(4-)-κO1:κO4]]di-antimonato(2-) de potássio tri-hidratado (2:2:2:3)
[*28300-74-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 103,0% de $C_8H_4K_2O_{12}Sb_2.3H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou incolor, cristalino.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver uma pequena quantidade da amostra em duas gotas de periodato de sódio a 5% (p/v). Adicionar uma gota de ácido sulfúrico 0,5 *M* e, após cinco minutos, adicionar algumas gotas de ácido sulfuroso, seguido de algumas gotas de fucsina descorada SR. Ocorre formação de coloração rosa em 15 minutos.

B. Quando aquecido à incandescência, ocorre a queima, com liberação de odor de açúcar queimado, levando a um resíduo escuro. Quando esse resíduo é levado à chama, esta apresenta coloração violeta.

C. Dissolver 1 g de amostra em 20 mL de água. Acidificar a solução com ácido clorídrico e adicionar sulfeto de hidrogênio SR. Ocorre formação de um precipitado alaranjado, solúvel em hidróxido de sódio 0,05 *M*.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 1 g de amostra em 50 mL de água isenta de compostos orgânicos e titular com ácido clorídrico 0,01 *M* ou com hidróxido de sódio 0,01 *M* em pH 4,5. São necessários, no máximo, 2 mL.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método II*. Dissolver 0,1 g de amostra em 5 mL de ácido clorídrico. Adicionar 10 mL de uma solução recém preparada de 20 g de cloreto estanoso em 30 mL de ácido clorídrico. Transferir para um tubo de comparação de coloração e deixar em repouso por 30 minutos. A superfície branca formada não é mais intensa do que a produzida quando é utilizada uma solução equivalente contendo 15 μg de arsênio. No máximo, 0,015% (150 ppm).

Chumbo (5.3.2.12). No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C até peso constante. No máximo, 2,7%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 50 mL de água. Adicionar 5 g de tartarato de potássio e sódio, 2 g de borato de sódio, 3 mL de amido iodetado SI e titular imediatamente com iodo 0,1 *M* SV, até o aparecimento de coloração azul persistente. Cada mL de iodo 0,1 *M* SV equivale a 16,697 mg de $C_8H_4K_2O_{12}Sb_2.3H_2O$

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

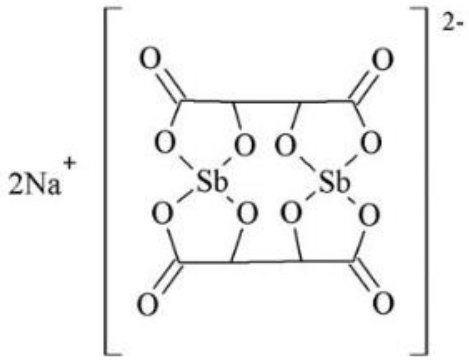
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiparasitário.

TARTARATO DE ANTIMÔNIO E SÓDIO



$C_8H_4Na_2O_{12}Sb_2$; 581,61
tartarato de antimônio e sódio; 09845
bis[μ-[(2*R*,3*R*)-2,3-Di(hidroxi-κO)butanodioato(4-)-κO1:κO4]]di-antimonato(2-) de sódio (2:2:2)
[*34521-09-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_8H_4Na_2O_{12}Sb_2$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou incolor, cristalino.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver uma pequena quantidade da amostra em duas gotas de periodato de sódio a 5% (p/v). Adicionar uma gota de ácido sulfúrico 0,5 *M* e, após cinco minutos, adicionar algumas gotas de ácido sulfuroso, seguido de algumas gotas de fucsina descorada SR. Ocorre formação de coloração rosa em 15 minutos.

B. Satisfaz às reações do íon antimônio **(5.3.1.1).**

C. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1).**

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 1 g de amostra em 50 mL de água isenta de dióxido de carbono e titular com ácido clorídrico 0,01 *M* ou com hidróxido de sódio 0,01 *M*, em pH 4,5. São necessários, no máximo, 2 mL.

Arsênio (5.3.2.5). Pesar 0,375 g de amostra e prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para arsênio, Método II*. No máximo, 0,0008% (8 ppm).

Chumbo (5.3.2.12). No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 2 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C até peso constante. No máximo, 6,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 50 mL de água. Adicionar 5 g de tartarato de potássio e sódio, 2 g de borato de sódio, 3 mL de amido iodetado SI e titular imediatamente com iodo 0,1 *M* SV até o aparecimento de coloração azul persistente. Cada mL de iodo 0,1 *M* SV equivale a 14,540 mg de $C_8H_4Na_2O_{12}Sb_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiparasitário.

TARTARATO DE METOPROLOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $(C_{15}H_{25}NO_3)_2.C_4H_6O_6$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 40 mg de tartarato de metoprolol para funil de separação. Adicionar 25 mL de água e 4 mL de hidróxido de amônio diluído (1:3). Extrair com 20 mL de clorofórmio, filtrando o extrato clorofórmio obtido através de sulfato de sódio anidro previamente umedecido com clorofórmio. Evaporar o clorofórmio até secura, congelar o resíduo a -18 °C por 30 minutos e deixar atingir a temperatura ambiente. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo, disperso em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de tartarato de metoprolol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução amostra, obtida no método **A**. de *Doseamento*, há máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução de tartarato de metoprolol SQR.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: fluido gástrico simulado (sem enzima), 900 mL.
Aparelhagem: cestas, 100 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir no *Meio de dissolução* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 275 nm **(5.2.14)**, utilizando o *Meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $(C_{15}H_{25}NO_3)_2.C_4H_6O_6$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de tartarato de metoprolol SQR, na concentração de 0,01% (p/v), preparada no *Meio de dissolução*.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $(C_{15}H_{25}NO_3)_2.C_4H_6O_6$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14).** Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 75 mg de tartarato de metoprolol para balão volumétrico de 200 mL e adicionar 150 mL de álcool etílico absoluto. Homogeneizar e deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com álcool etílico absoluto, homogeneizar e filtrar. Transferir 20 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com álcool etílico absoluto e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 274 nm, utilizando álcool etílico absoluto para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $(C_{15}H_{25}NO_3)_2.C_4H_6O_6$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 961 mg de 1-pentanossulfonato de sódio monoidratado e 82 mg de acetato de sódio anidro em uma mistura de 550 mL de álcool metílico e 470 mL de água, adicionar 0,57 mL de ácido acético glacial e homogeneizar.

Diluente: preparar uma mistura de álcool metílico e ácido clorídrico 0,1 *M* (1:1).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de tartarato de metoprolol para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de *Diluente* e deixar em banho de ultrassom durante 30 minutos. Completar o volume com o *Diluente*, homogeneizar e filtrar. Diluir até a concentração de 0,5 mg/mL, utilizando *Fase móvel* como solvente.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de tartarato de metoprolol SQR em *Diluente*, de modo a obter solução a 1 mg/mL. Diluir até a concentração de 0,5 mg/mL, utilizando *Fase móvel* como solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $(C_{15}H_{25}NO_3)_2.C_4H_6O_6$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

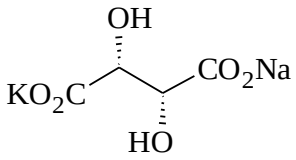
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TARTARATO DE POTÁSSIO E SÓDIO

Kalii natrii tartras



$C_4H_4KNaO_6$; 210,16
tartarato de potássio e sódio; 09846
Sal de sódio e potássio do ácido (2*R*,3*R*)-2,3-di-hidroxibutanodioico (1:1:1)
[*304-59-6*]

$C_4H_4KNaO_6.4H_2O$; 282,22
tartarato de potássio e sódio tetraidratado; 11396
Sal de sódio e potássio do ácido (2*R*,3*R*)-2,3-di-hidroxibutanodioico tetra hidratado (1:1:1:4)
[*6381-59-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 102,0% de $C_4H_4KNaO_6$ calculado em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou incolor, cristais transparentes.

Solubilidade. Muito solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Em 10 mL de uma solução a 5% (p/v), adicionar 10 mL de ácido acético 6 *M*. Um precipitado branco cristalino se forma dentro de 15 minutos.

B. Satisfaz às reações do íon tartarato **(5.3.1.1).**

C. Satisfaz às reações do íon potássio **(5.3.1.1).**

D. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1).**

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 5 g da amostra em 100 mL de água. A 5 mL dessa solução, adicionar 0,1 mL de fenolftaleína SI. São necessários, no máximo, 0,5 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* ou de hidróxido de sódio 0,01 *M*, para mudar a cor do indicador.

Bário e oxalatos. A 5 mL da solução obtida no ensaio *Acidez ou alcalinidade*, adicionar 3 mL de sulfato de cálcio SR. Deixar em repouso por cinco minutos. Qualquer opalescência na preparação não é mais intensa que a obtida com a mistura de 3 mL de sulfato de cálcio SR e 5 mL de água destilada.

Amônia (5.3.2.6). Em 5 mL da solução obtida no ensaio *Acidez ou alcalinidade*, realizar *Ensaio limite para amônia.* No máximo, 0,004% (40 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo, 0,02% (200 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). No máximo, 0,01% (100 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 4,8 g da amostra. Utilizar 0,5 mL de ácido sulfúrico padrão. No máximo, 0,005% (50 ppm).

Água (5.2.20.1). Entre 21,0% e 27,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da amostra em um cadinho de porcelana tarado e levar à ignição, lentamente no início, até o sal ser carbonizado, protegendo o sal carbonizado da chama o tempo inteiro. Resfriar o cadinho, colocá-lo em um béquer de vidro e quebrar a massa carbonizada com um bastão de vidro. Sem remover o bastão de vidro ou o cadinho, adicionar 50 mL de água e 50 mL de ácido sulfúrico 0,25 *M* SV, cobrir o béquer e ferver a solução por 30 minutos. Filtrar e lavar com água quente, até a última lavagem ser neutra ao papel tornassol. Resfriar o filtrado e as lavagens. Titular o excesso do ácido com hidróxido de sódio 0,5 *M* SV usando, como indicador, uma mistura de 10 mL de vermelho de metila SI e 10 mL de cloreto de metiltionínio SR1. Efetuar prova em branco. Cada mL de ácido sulfúrico 0,25 *M* SV equivale a 52,540 mg de $C_4H_4KNaO_6$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes fechados

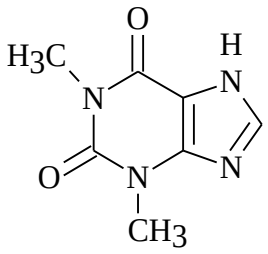
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente

CATEGORIA

Catártico.

TEOFILINA
Theophyllinum



$C_7H_8N_4O_2$; 180,17
teofilina; 08397
1,3-dimetil-3,7-diidro-1*H*-purina-2,6-diona
[*58-55-9*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_7H_8N_4O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de hidróxidos de metais alcalinos, em amônia e em ácidos minerais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 270 °C a 274 °C com a amostra previamente dessecada.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **B.**, **C.**, **D.** *e* **E.** *podem ser omitidos se for realizado o teste* **A.** *O teste de identificação* **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.**, **C.**, **D.** *e* **E.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)**, da amostra dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de teofilina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução da amostra a 0,0005% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M*, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de teofilina SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Aquecer em banho-maria cerca de 10 mg da amostra, dissolvidos em 1 mL de hidróxido de potássio 360 g/L, por três minutos. Adicionar 1 mL de ácido sulfanílico diazotado SR. Uma coloração avermelhada se forma lentamente.

D. Dissolver cerca de 10 mg da amostra em 10 mL de água e adicionar 0,5 mL de acetato de mercúrio (II) a 5% (p/v). Após alguns minutos produz-se precipitado branco cristalino.

E. Satisfaz à reação de xantinas **(5.3.1.1).**

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver cerca de 0,5 g da amostra, pesada com exatidão, em 75 mL de água. Adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* e uma gota de vermelho de metila SI, uma coloração amarelada se forma.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de acetona, clorofórmio, álcool metílico, álcool butílico e amônia (3:3:2:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 100 mg de teofilina, pesada com exatidão, em 3 mL de *N*,*N*-dimetilformamida e adicionar 10 mL de álcool metílico.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Observar sob luz ultravioleta em 254 nm. A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*. E nenhuma mancha secundária obtida com a *Solução (1)* excede em intensidade àquela obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por três horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 150 mg da amostra e dissolver em 100 mL de água, adicionar 20 mL de nitrato de prata SR. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV, utilizando azul de bromotimol SI até viragem de coloração. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 18,017 mg de $C_7H_8N_4O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

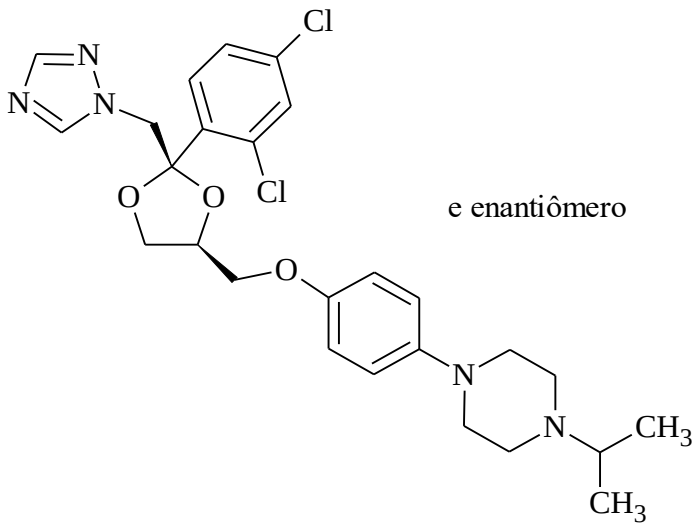
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Broncodilatador.

TERCONAZOL

Terconazolum



$C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$; 532,47
terconazol; 08417
rel-1-[4-[[(2*R*,4*S*)-2-(2,4-Diclorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]-4-(1-metiletil)-piperazina
[*67915-31-5*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: -0,10 a +0,10, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 10% (p/v) em cloreto de metileno.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de terconazol SQR, preparado de maneira idêntica. Se o espectro obtido apresentar diferenças, dissolver a amostra e o padrão, separadamente, em um volume mínimo de acetona. Deixar evaporar até a secura e realizar novo espectro com os resíduos.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetato de amônio SR, dioxano e álcool metílico (20:40:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 30 mg da amostra em álcool metílico e diluir a 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver 30 mg de terconazol SQR em álcool metílico e diluir a 5 mL com o mesmo solvente.

Solução (3): dissolver 30 mg de terconazol SQR e 30 mg de cetoconazol SQR em álcool metílico e diluir a 5 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e aquecer por 15 minutos. Expor ao vapor de iodo até que as manchas apareçam. A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar duas manchas nitidamente separadas.

C. A 30 mg da amostra, em cadinho de porcelana, acrescentar 0,3 g de carbonato de sódio anidro. Aquecer ao rubro por 10 minutos. Deixar esfriar. Extrair o resíduo com 5 mL de ácido nítrico SR e filtrar. Para 1 mL do filtrado adicionar 1 mL de água. Satisfaz às reações do íon cloreto **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): dissolver, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra em álcool metílico e diluir a 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool metílico. Transferir 2,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução (3): dissolver 2,5 mg de terconazol SQR e 2 mg de cetoconazol SQR em álcool metílico e diluir a 100 mL com o mesmo solvente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,8 para o cetoconazol e 1,0 para o terconazol. A resolução entre os picos de terconazol e de cetoconazol é, no mínimo, 10,0. Realizar ajustes, se necessário.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de álcool metílico como branco, 20 µL da *Solução (1)* e 20 µL da *Solução (2)*. A área sob qualquer pico obtido no cromatograma com a *Solução (1)*, com exceção da sob o pico principal, não é maior do que a área sob o pico principal, obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (0,25%). A soma das áreas sob todos os picos, exceto a sob o pico principal, obtidas no cromatograma com a *Solução (1)*, não é maior que o dobro da área sob o pico principal, obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (0,5%). Desprezar qualquer pico obtido com o branco ou com área menor que 0,2 vezes a área sob o pico principal, obtido no cromatograma com a *Solução (2)* (0,05%).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 ºC e 105 °C, até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,15 g da amostra em 70 mL de mistura de ácido acético glacial e metiletilcetona (9:1). Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente, no segundo ponto de inflexão. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 17,749 mg de $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 125 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano desativado (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Eluente A: solução de hidrogenossulfato de tetrabutilamônio a 3,4 mg/mL.

Eluente B: acetonitrila.

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

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 10	95 → 50	5 → 50	gradiente linear
10 – 15	50	50	isocrática
15 – 20	95	5	estabilização

Solução amostra: dissolver, quantitativamente, quantidade da amostra em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 50 µg/mL.

Solução padrão: dissolver, quantitativamente, quantidade de terconazol SQR em álcool metílico, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 50 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver 2,5 mg de terconazol SQR e 2 mg de cetoconazol SQR em álcool metílico e diluir a 100 mL com o mesmo solvente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,8 para o cetoconazol e 1,0 para o terconazol. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%. A resolução entre os picos de terconazol e de cetoconazol deve ser, no mínimo, 10,0. Realizar ajustes, se necessário.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

TERCONAZOL CREME

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 226,6 nm, idêntico ao observado no espectro da *Solução padrão*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, quantidade do creme equivalente a cerca de 14 mg de terconazol para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Agitar por 30 minutos para dispersar o creme e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,0014% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 226,6 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$ no creme a partir das leituras obtidas.

B. Por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Terconazol*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, quantidade de creme equivalente a cerca de 40 mg de terconazol para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Agitar por 30 minutos para dispersar o creme, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar, desprezando os primeiros 5 mL do filtrado. Transferir 25 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 200 μg/mL. Transferir 15 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 60 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$ no creme, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

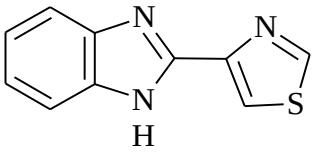
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TIABENDAZOL
Tiabendazolum



$C_{10}H_7N_3S$; 201,25
tiabendazol; 08493
2-(4-Tiazolil)-1*H*-benzimidazol
[*148-79-8*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{10}H_7N_3S$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em ácidos minerais diluídos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 296 ºC a 303 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dessecada a 105 ºC até peso constante, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro do tiabendazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Pesar 25 mg da amostra, dissolver em ácido clorídrico 0,1 *M* e diluir, no mesmo solvente, até concentração de 0,0005% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14)** da solução obtida, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximo de absorção em 302 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de tiabendazol SQR.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (3)*.

D. Dissolver 10 mg da amostra em 5 mL de ácido clorídrico *M*, adicionar 5 mg de cloridrato de *p*-fenilenodiamina e agitar até dissolução. Adicionar cerca de 0,1 g de zinco em pó, misturar e deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 5 mL de sulfato férrico amoniacal SR recém-preparado. Desenvolve-se coloração azul ou azul-violeta.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel HF_{254}, como suporte, e mistura de água, acetona, ácido acético glacial

e tolueno (2,5:10:25:62,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL. Dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução (3): transferir 25 mg de tiabendazol SQR para balão volumétrico de 25 mL. Dissolver em álcool metílico e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (4): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução (5): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (4)* (1,0%), e apenas uma mancha é mais intensa que aquela obtida no cromatograma com a *Solução (5)* (0,4%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver, quantitativamente, cerca de 0,15 g da amostra em 30 mL ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final potenciometricamente ou utilizando cloreto de metilrosanilínio SI até mudança de cor de azul para azul-esverdeada. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 20,125 mg de $C_{10}H_7N_3S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-helmíntico.

TIABENDAZOL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_7N_3S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **B.** de *Doseamento*, há máximo em 302 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão. **B.** O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **C.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 20 mg de tiabendazol. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico *M*, 5 mg de cloridrato de dimetil-*p*- fenilenodiamina e agitar. Adicionar 0,1 g de zinco em pó, misturar, aguardar por dois minutos e adicionar 10 mL de sulfato férrico amoniacal SR recém-preparado. Produz-se coloração azul intensa ou violeta.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento.*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 0,15 g de tiabendazol e proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Tiabendazol.*

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de tiabendazol para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 75 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, aquecer em banho-maria, por 15 minutos, agitando ocasionalmente, esfriar, completar o volume para 100 mL com ácido clorídrico 0,1 *M* e filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Dessa solução, pipetar 5 mL, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo solução a 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão de mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções

resultantes em 302 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_7N_3S$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 mm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 3,5: dissolver 13,8 g de fosfato de sódio monobásico em 2000 mL de água. Ajustar o pH da solução, com ácido fosfórico, para 3,5 ± 0,05.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 3,5* e álcool metílico (54:46).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,2 g de tiabendazol, para um balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 100 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, homogeneizar e aquecer em banho-maria por 30 minutos. Esperar esfriar à temperatura ambiente e completar o volume com água. Homogeneizar e filtrar, descartando os primeiros 20 mL do filtrado.

Solução padrão: dissolver quantidade de tiabendazol SQR, pesada com exatidão, em ácido clorídrico 0,1 *M* e realizar diluições quantitativas, se necessário, até obter solução a 2 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água, obtendo solução a 0,2 mg/mL. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 960 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_7N_3S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Manter em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TIABENDAZOL POMADA

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_7N_3S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximo de absorção em 302 nm, idêntico ao observado no espectro da solução padrão.

B. Dispensar quantidade da pomada equivalente a 10 mg de tiabendazol em 5 mL de ácido clorídrico *M*, adicionar 5 mg de cloridrato de dimetil-*p*-fenilenodiamina e homogeneizar. Adicionar 0,1 g de zinco em pó, agitar e deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 5 mL de sulfato férrico amoniacal SR. Desenvolve-se coloração azul intensa ou azul-violeta.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Pesar quantidade da pomada equivalente a 50 mg de tiabendazol e transferir, quantitativamente, para funil de separação de 250 mL de capacidade, com auxílio de 50 mL de éter etílico. Agitar para dissolver a pomada e extrair com quatro porções de 40 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Reunir o extrato aquoso em balão volumétrico de 250 mL e aquecer levemente para eliminar resíduos de éter etílico. Resfriar e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M*, de modo a obter solução a 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 302 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_7N_3S$ na pomada a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados e ao abrigo do calor excessivo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TIABENDAZOL SUSPENSÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_7N_3S$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra, obtida no método **A.** de *Doseamento*, há máximo de absorção em 302 nm, idêntico ao observado no espectro de tiabendazol SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal do cromatograma da *Solução padrão*.

C. Transferir para tubo de ensaio, volume de suspensão oral equivalente a 50 mg de tiabendazol, adicionar 10 mL de ácido clorídrico *M* e agitar energicamente. Transferir 5 mL para tubo de ensaio, adicionar 5 mg de cloridrato de dimetil-*p*-fenilenodiamina e agitar. Adicionar 0,1 g de zinco em pó e agitar. Deixar em repouso por dois minutos. Adicionar 5 mL de sulfato férrico amoniacal SR. Produz-se coloração azul intensa ou azul-violeta.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Esvaziar completamente o conteúdo da quantidade de frascos determinada na **Tabela 1** em *Determinação de volume* **(5.1.2)**, previamente agitados, em provetas correspondentes, limpas e secas, providas de tampa. Observar imediatamente sob condições adequadas de visibilidade. O conteúdo deve escorrer com fluidez, a suspensão deve se apresentar homogênea, viscosa, isenta de grumos e partículas estranhas. Após 24 horas de repouso, pode apresentar ligeira sedimentação, que deve ressuspender após agitação.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,4 a 7,0. Determinar na suspensão oral reconstituída conforme indicado no rótulo.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 0,25 g de tiabendazol para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 75 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*. Aquecer em banho-maria por 15 minutos, agitando ocasionalmente. Esfriar à temperatura ambiente. Completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e filtrar. Diluir, sucessivamente em ácido clorídrico 0,1 *M*, até concentração de 0,0005% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 302 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{10}H_7N_3S$ na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 3,1: dissolver 13,8 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado em 2000 mL de água. Ajustar o pH da solução com ácido fosfórico em 3,10 ± 0,05.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 3,1* e álcool metílico (65:35).

Solução amostra: transferir volume da suspensão oral, equivalente a 500 mg de tiabendazol, para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água, obtendo solução a 0,2 mg/mL. Homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de tiabendazol SQR em ácido clorídrico 0,1 *M* para obter solução a 2 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água, obtendo solução a 0,2 mg/mL. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 960 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_7N_3S$ na suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

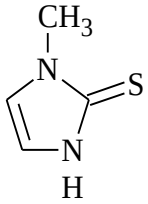
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados e ao abrigo do calor excessivo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TIAMAZOL
Thiamazolum



$C_4H_6N_2S$; 114,17
tiamazol; 08504
1,3-Diidro-1-metil-2*H*-imidazol-2-tiona
[*60-56-0*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_4H_6N_2S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou levemente amarelado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, em cloreto de metileno e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 143 °C a 146 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dessecada a 105 °C por duas horas, e dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de tiamazol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 300 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em solução de ácido sulfúrico a 0,28% (v/v), há máximos de absorção em 211 nm e em 251 nm. A razão entre os valores de absorvância medidos em 251 nm e 211 nm está compreendida entre 2,5 e 2,7.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de hidróxido de amônio, álcool isopropílico e tolueno (1:24:75) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em álcool metílico.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de tiamazol SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha no cromatograma obtido com a *Solução (1)*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela do cromatograma obtido com a *Solução (2)*. Expor a placa ao vapores de iodo durante 30 minutos, o cromatograma apresenta dois pontos claramente separados.

A versão da monografia avaliada em Julho de 2014 não traz essa frase final. Após a exposição aoS vapores de iodo durante 30 minutos, a mancha obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela do cromatograma obtido com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo a gás provido de detector de ionização de chamas, coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com polidifenildimetilsiloxano com especial desativação para compostos básicos, com espessura do filme de 0,5 mm; temperatura da coluna de 100 °C a 250 °C (100 °C mantida durante dois minutos após a injeção, aumentada a 250 °C de dois a sete minutos e mantida à 250 °C durante o período de sete a 22 minutos), temperatura do injetor a 150 °C e temperatura do detector a 250 °C; utilizando hélio como gás de arraste e auxiliar à chama do detector; fluxo de 1,5 mL/minuto.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em clorofórmio.

Solução (2): solução a 0,01 mg/mL da amostra em clorofórmio.

Solução (3): dissolver 5 mg de 2,2-dimetoxi-N-metiletanamina SQR (*Impureza A*), 5 mg de 1-metil-1H-imidazol SQR (*Impureza B*) e 5 mg de 1-metil-2-(metilsulfanil)-1H-imidazol SQR (*Impureza C*) em clorofórmio até completar 50 mL. Transferir 1 mL dessa solução para um balão de 10 mL e completar o volume com clorofórmio.

Injetar, separadamente, replicatas de 1 µL da *Solução (2)* e da *Solução (3)*. O tempo de retenção do tiamazol é cerca de 6,5 minutos. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,3 para a *Impureza A* 0,4 para a *Impureza B*, 0,7 para a *Impureza C* e 1,0 para o tiamazol. A resolução entre os picos da *Impureza B* e da *Impureza A* é, no mínimo, 1,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução (1)*, da *Solução (2)* e da *Solução (3)*, utilizando divisão de fluxo de 3:20. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao tiamazol. As áreas obtidas com as *Impurezas A*, *B* e *C* no cromatograma da *Solução (1)* são, no máximo, iguais às áreas correspondentes obtidas com a *Solução (3)* (0,1%). Nenhuma área de qualquer outra impureza é maior do que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A soma das áreas sob todos os picos, exceto a sob o pico principal, obtidos no cromatograma da *Solução (1)*, é, no máximo, cinco vezes a área sob o pico principal da *Solução (2)* (0,5%). Desconsiderar picos com área até 0,2 vezes a área sob o pico principal no cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,02%).

Selênio. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução de 2,3-diaminonaftaleno: dissolver 0,1 g de 2,3-diaminonaftaleno e 0,5 g de cloridrato de hidroxilamina em ácido clorídrico 0,1 *M* e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Preparar a solução no dia do ensaio.

Solução amostra: com 0,1 g da amostra proceder conforme descrito em *Método de combustão* **(5.3.3.3)**, *Método do frasco de combustão em pressão atmosférica*, utilizando 25 mL de ácido nítrico diluído (1:30) como solução absorvedora. Concluída a combustão completa da amostra, lavar a tampa com pequena porção de água e transferir a solução para béquer, lavar o equipamento com 25 mL de

água e juntá-la à solução anterior. Ferver suavemente por 10 minutos e esfriar até a temperatura ambiente.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 40 mg de selênio, dissolver em 100 mL de ácido nítrico diluído (1:2), se necessário aquecer em banho-maria para dissolver, transferir para balão volumétrico de 1000 mL com auxílio de água, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com água. Transferir 3 mL dessa solução para béquer de 150 mL, adicionar 25 mL de água e 25 mL de ácido nítrico diluído (1: 30).

Solução branco: misturar 25 mL de água e 25 mL de ácido nítrico diluído (1:30).

Procedimento: transferir a *Solução amostra*, a *Solução padrão* e a *Solução branco* para béqueres separados, ajustar o pH em 2,0 ± 0,2 com solução de hidróxido de amônio (1:2) e completar a volume para 60 mL com água. Transferir cada solução para funil de separação âmbar. Lavar cada béquer com 10 mL de água e juntar a cada funil de separação respectivamente. Acrescentar 0,2 g de cloridrato de hidroxilamina, agitar suavemente para solubilizar. Adicionar imediatamente 5 mL de *Solução de 2,3-diaminonaftaleno*, agitar e deixar em repouso por 100 minutos. Adicionar 5 mL de cicloexano em cada funil de separação, agitar durante dois minutos e separar as fases. Centrifugar os extratos de cicloexano para remover qualquer água remanescente. Determinar as absorvâncias dos extratos de cicloexano da *Solução padrão* e da *Solução amostra* em 378 nm. Utilizar extrato de cicloexano da *Solução branco* para ajuste do zero. A absorvância da *Solução amostra* é, no máximo, igual à da *Solução padrão*.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Realizar o teste com 12 mL da solução a 10% p/v em água. Preparar solução padrão utilizando *Solução padrão de chumbo diluída (1 ppm Pb)*. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 °C por duas horas. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra, dissolver em 75 mL de água. Adicionar 15 mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV e homogeneizar. Adicionar, sob agitação, 30 mL de nitrato de prata 0,1 *M* e 1 mL de azul de bromotimol SI. Titular com hidróxido de sódio 0,1 *M* SV até coloração azul esverdeada permanente. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 *M* SV equivale a 11,417 mg de $C_4H_6N_2S$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes protegidos da luz.

ROTULAGEM

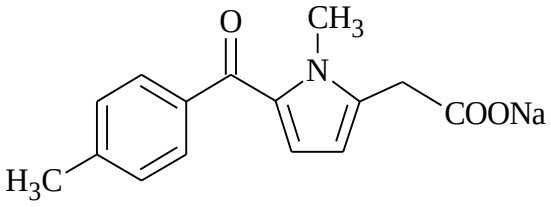
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Inibidor da síntese de hormônios tireoidianos.

TOLMETINA SÓDICA

Tolmetinum natricum



$C_{15}H_{14}NNaO_3$; 279,27
tolmetina sódica; 08743
Sal de sódio do ácido 1-metil-5-(4-metilbenzoil)-1*H*-pirrol-2-acético (1:1)
[*35711-34-3*]

$C_{15}H_{14}NNaO_3.2H_2O$; 315,30
tolmetina sódica di-hidratada; 11397
Sal de sódio do ácido 1-metil-5-(4-metilbenzoil)-1*H*-pirrol-2-acético di-hidratada (1:1:2)
[*64490-92-2*]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{14}NNaO_3$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino levemente amarelado ou laranja.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de tolmetina sódica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em tampão fosfato *M*/15 pH 7,0, há máximos nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro de solução similar de tolmetina sódica SQR.

C. Pesar 1 g de amostra e dissolver em 20 mL de água. Satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando placa coberta com, aproximadamente, 0,25 mm de sílica-gel, como suporte, e mistura de clorofórmio e ácido acético glacial (95:5) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,125 g de amostra em 10 mL de álcool metílico, obtendo solução a 12,5 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de tolmetina sódica SQR em álcool metílico, de modo a obter uma solução com concentração 12,5 mg/mL. Diluir uma porção dessa solução, quantitativamente, em álcool metílico, de modo a obter uma solução com concentração de 62,5 µg/mL.

Desenvolver o cromatograma até o solvente atingir 3/4 do comprimento da placa. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde à obtida no cromatograma com a *Solução (2)*. Nenhuma mancha secundária é mais intensa que a da Solução (2) (0,5%). O total de impurezas não é maior que 2%

Impurezas orgânicas voláteis. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, 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 0,53 mm de diâmetro interno, preenchida com fase estacionária ligada a 5% de fenilpolisiloxano e 95% a metilpolisiloxano, com espessura do filme de 5 µm; temperatura da coluna de 35 °C a 260 °C (35 °C mantida durante cinco minutos, aumentada a 175 °C a 8°C por minuto, aumentada a 260 °C a 35 °C e mantida à esta temperatura por pelo menos 16 minutos), temperatura do injetor de 70 °C e temperatura do detector de 260 °C; utilizar hélio como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Solução amostra: dissolver, quantitativamente, cerca de 1 g da amostra em 50 mL de água isenta de compostos orgânicos.

Solução padrão: preparar uma solução, em água isenta de compostos orgânicos, contendo em cada mililitro: 10 µg de cloreto de metileno, 1 µg de clorofórmio, 2 µg de benzeno, 2 µg de dioxano e 2 µg de tricloroetileno.

Injetar, separadamente, 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* no cromatógrafo a gás. Obter os cromatogramas e medir a área sob os picos. Identificar, baseado no tempo de retenção, qualquer pico presente no cromatograma da solução amostra. A presença e a identificação dos picos no cromatograma devem ser estabelecidas, comparando os cromatogramas da *Solução amostra* e *Solução padrão*. Limites: benzeno 2 ppm, clorofórmio 50 ppm, dioxano 100 ppm, cloreto de metileno 500 ppm e tricloroetileno 80 ppm. Cumpre o teste.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. Utilizar 1 g de amostra. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por quatro horas. Entre 10,4% e 12,4%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da amostra e dissolver, sob aquecimento, em 150 mL de ácido acético glacial. Esfriar à temperatura ambiente e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV, determinando o ponto final

potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 27,927 mg de $C_{15}H_{14}NNaO_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

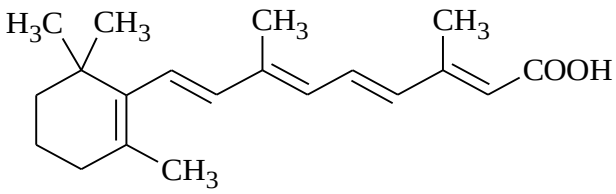
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

TRETINOÍNA
Tretinoinum



$C_{20}H_{28}O_2$; 300,44
tretinoína; 08848
Ácido retinoico
[*302-79-4*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{20}H_{28}O_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino, amarelo ou laranja-claro. Temperatura de fusão **(5.2.2)**: funde a 182 °C, com decomposição.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em clorofórmio e em álcool metílico, pouco solúvel em éter etílico, muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Nota: *proceder às análises ao abrigo da luz direta e empregar vidraria âmbar.*

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra dispersa em brometo de potássio, previamente dessecada, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de tretinoína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas e limite de isotretinoína. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as *Soluções (1), (2), (3), (4),* e *(5)* como descrito a seguir.

Solução (1): transferir 0,1 g da amostra, exatamente pesados, para balão volumétrico de 50 mL, dissolver com álcool metílico, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): transferir 10 mg de isotretinoína SQR, exatamente pesados, para balão volumétrico de 10 mL, dissolver com álcool metílico, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução (4): transferir 1 mL da *Solução (2)* e 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 25 mL, misturar, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução (5): transferir 0,5 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 μL de cada uma das *Soluções (1), (2), (3), (4)* e *(5)*. O desvio padrão das áreas sob os picos principais é, no máximo, 2,0% em duas injeções sucessivas. No cromatograma da *Solução (4)*, a resolução entre tretinoína e isotretinoína é, no mínimo, 2,0.

Procedimento: Injetar, separadamente, 10 μL de cada uma das *Soluções (1), (2), (3), (4)* e *(5)*, registrar os cromatogramas e medir as àreas sob os picos. No cromatograma obtido com a *Solução (1)* a área sob o pico exato da isotretinoína é, no máximo, igual à área sob o pico principal obtido no cromatograma da *Solução (3)* (2,0%) e a soma das áreas sob todos os picos obtidos na *Solução (1)*, com exceção das sob os picos da tretinoína, do solvente e sob o pico da isotretinoína, é, no máximo, igual à área sob o pico principal obtido com a *Solução (5)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g de amostra, à temperatura ambiente, sob pressão reduzida, por 16 horas, até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo, 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da amostra e dissolver em 70 mL de acetona. Titular com hidróxido de tetrabutilamônio 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de hidróxido de tetrabutilamônio 0,1 *M* SV equivale a 30,044 mg de $C_{20}H_{28}O_2$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 353 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 μm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Realizar a análise ao abrigo da luz direta.

Fase móvel: álcool metílico e água (77:23), com 0,5% (v/v) de ácido acético glacial; se necessário, ajustar para obter um tempo de retenção para a tretinoína em torno de 18 minutos.

Solução amostra: dissolver quantidade exatamente pesada da amostra em álcool metílico para obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico âmbar de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 40 μg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de tretinoína SQR em álcool metílico para obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico âmbar de 50 mL e completar o volume com álcool metílico, obtendo solução a 40 μg/mL.

Procedimento: injetar separadamente 20 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{20}H_{28}O_2$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz, em temperatura não excedendo 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Queratolítico.

TRETINOÍNA CREME

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{28}O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1.). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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)**. Manter a amostra e suas soluções ao abrigo da luz direta. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 365 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 ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Tampão fosfato: dissolver 1,38 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água. Ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico diluído.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato* e tetraidrofurano (55:45). Realizar os ajustes necessários para que o tempo de retenção seja de 15 minutos.

Diluente: mistura de água e ácido fosfórico a 10% (v/v) (9:1).

Solução amostra: transferir uma quantidade, pesada com exatidão, de creme, equivalente a 1 mg de tretinoína para um balão volumétrico âmbar de 50 mL e adicionar 20 mL de tetraidrofurano. Agitar para dispersar o creme, completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar. Transferir 5 mL desta solução para um balão volumétrico âmbar de 25 mL e completar o volume com a mistura de tetraidrofurano e *Diluente* (3:2). Homogeneizar e filtrar.

Solução padrão: dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de tretinoína SQR em tetraidrofurano para obter uma solução de concentração 0,4 mg/mL. Realizar diluições sucessivas desta solução com uma mistura de tetraidrofurano e *Diluente* (3:2), até obter uma solução de concentração 4 µg/mL.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registradosé, no máximo, 2,0%.
Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{28}O_2$ no creme a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *amostra*.
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TRETINOÍNA GEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 120,0% da quantidade declarada de $C_{20}H_{28}O_2$.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 300 nm a 450 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda, idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel F_{254}, como suporte, e mistura de cicloexano e álcool isopropílico (10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver uma quantidade de gel equivalente a cerca de 1,25 mg de tretinoína em álcool metílico aquecido. Deixar esfriar à temperatura ambiente. Extrair com três porções de 50 mL de hexano. Lavar o extrato com 20 mL de água e filtrar com sulfato de sódio anidro. Evaporar o filtrado até secura, em evaporador rotatório, em temperatura não excedendo a 60 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de álcool metílico.

Solução (2): solução a 0,25 mg/mL de tretinoína SQR em álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 353 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,4 mL/minuto.

Fase móvel: solução de ácido acético glacial a 0,5% (v/v) em mistura de álcool metílico e água (77:23).

Solução (1): utilizar a *Solução (1)* obtida no método **A.** para *Identificação*.

Solução (2): diluir 3 mL da *Solução (1)* com álcool metílico para 100 mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* não é maior que a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (3,0%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Manter a amostra e suas soluções ao abrigo da luz direta. Dissolver uma quantidade de gel equivalente a cerca de 0,5 mg de tretinoína em clorofórmio e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 365 nm, utilizando clorofórmio para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{20}H_{28}O_2$ no gel a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A (1%, 1 cm) = 1430, em 365 nm, em clorofórmio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

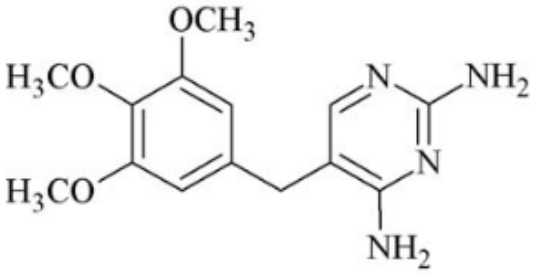
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TRIMETOPRIMA

Trimethoprimum



$C_{14}H_{18}N_4O_3$; 290,32
trimetoprima; 08921
5-[(3,4,5-Trimetoxifenil)metil]-2,4-pirimidinadiamina
[*738-70-5*]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{14}H_{18}N_4O_3$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou branco amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool metílico, pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 199 ºC a 203 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação **A.** *pode ser omitido se forem realizados os testes* **B.** *e* **C.**

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra previamente dessecada, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de trimetoprima SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Transferir cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 25 mL de álcool etílico. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 *M*, de modo a obter solução a 0,002% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 230 nm a 350 nm, da solução a 0,002% (p/v), há máximo em 287 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de trimetoprima SQR. A absorção máxima não deve diferir mais do que 3,0%.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução (1)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde àquele do pico relativo à trimetoprima da *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. 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 octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,3 mL/minuto.

Tampão perclorato pH 3,6: dissolver 1,405 g de perclorato de sódio em 950 mL de água, ajustar o pH em 3,6 com ácido fosfórico e diluir para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Tampão perclorato pH 3,6* e álcool metílico (7:3). Fazer ajustes, se necessário.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL com auxílio de 15 mL de *Fase móvel*. Deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver quantidades, pesadas com exatidão, de trimetoprima SQR e de diaveridina em *Fase móvel* e diluir com o mesmo solvente, de modo a obter solução contendo, respectivamente, 10 µg/mL e 5 µg/mL de cada substância.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*. A resolução entre os picos de diaveridina e trimetoprima SQR é, no mínimo, 2,5. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução (1)*, registrar o cromatograma por, no mínimo, 11 vezes o tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza na amostra segundo a equação:

$$100\left\{Fr_i/\left[\sum(Fr_i)+Fr_t\right]\right\}$$

em que

F = fator de resposta relativo, 0,53 para o pico com tempo de retenção relativo de 0,9 (4-amino-5-(3,4,5-trimetoxibenzil)pirimidin-2-ol); 0,43 para o pico com tempo de retenção relativo de 2,3((2,4-diaminopirimidin-5-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona); 0,66 para o pico com tempo de retenção relativo de 2,7 (ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico); 0,5 para o pico com tempo de retenção relativo de 10,3 (3,4,5-trimetoxibenzoato de metila) e 1,0 para quaisquer outros picos, em relação à trimetoprima;
r_i = área sob o pico de qualquer impureza individual obtido para a *Solução teste*;
r_t = área sob o pico de trimetoprima obtido para a *Solução teste*.

No máximo, 0,1% de qualquer impureza individual. A soma das porcentagens de todas as impurezas presentes é, no máximo, 0,2%. Não considerar picos relativos ao solvente.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 ºC, por quatro horas ou até peso constante. No máximo, 0,5%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso* **(5.3.3.5)**. Dissolver 0,3 g da amostra em 60 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 29,032 mg de $C_{14}H_{18}N_4O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

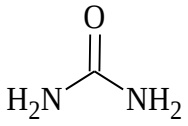
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibacteriano.

UREIA
Ureum



CH_4N_2O; 60,06
ureia; 01711
Ureia
[*57-13-6*]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 100,5% de CH_4N_2O, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco, cristalino ou cristais transparentes, levemente higroscópicos.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em etanol.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: 132 ºC a 135 ºC.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ureia SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Aquecer 0,5 g da amostra em tubo de ensaio. Ocorre liquefação com liberação de amônia. Prosseguir o aquecimento até turvação do líquido e resfriar. Dissolver a massa fundida em 10 mL de água, adicionar 1 mL de hidróxido de sódio SR e uma gota de sulfato cúprico SR. Desenvolve-se coloração violeta-avermelhada.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 1 mL de água e adicionar 1 mL de ácido nítrico SR. Produz-se precipitado branco cristalino de nitrato de ureia.

ENSAIOS DE PUREZA

Resíduo insolúvel em etanol. Dissolver 5 g da amostra em 50 mL de etanol levemente aquecido. Se algum resíduo insolúvel for observado, filtrar a solução em papel de filtro tarado. Lavar o resíduo e o papel de filtro com 20 mL de etanol levemente aquecido e dessecar em estufa a 105 ºC por uma hora. No máximo, 2 mg (0,04%).

Amônia (5.3.2.6). Dissolver 10 g da amostra em 50 mL de água. Utilizar 0,1 mL da solução. No máximo, 0,05% (500 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 5 g da amostra. No máximo, 0,007% (70 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 2 g da amostra. Utilizar 0,5 mL de solução padrão de ácido sulfúrico 0,005 *M*. No máximo, 0,012% (120 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. Determinar em 2 g da amostra. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 ºC, por duas horas. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,1%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra, dissolver em água e diluir para 200 mL com o mesmo solvente. Prosseguir conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl - semimicrodeterminação* **(5.3.3.2.2)**, utilizando 2 mL da solução obtida. Cada mL de ácido sulfúrico 0,005 *M* SV equivale a 0,303 mg de CH_4N_2O.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

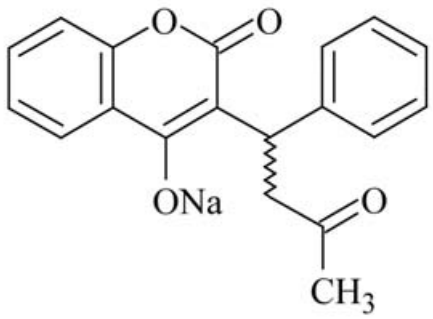
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Queratolítico.

VARFARINA SÓDICA

Warfarinum natricum



$C_{19}H_{15}NaO_4$; 330,31
varfarina sódica; 09101
Sal de sódio de 4-hidroxi-3-(3-oxo-1-fenilbutil)-2*H*-1-benzopiran-2-ona (1:1)
[*129-06-6*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{19}H_{15}NaO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco e higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão **(5.2.2)**: o precipitado obtido no teste **A.** de *Identificação*, dessecado em estufa a 105 °C, funde entre 159 °C a 163 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver cerca de 1 g de amostra em 25 mL de água. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico e filtrar. Utilizar o filtrado para realizar o teste. No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** do resíduo de varfarina obtido no filtrado, disperso em óleo mineral, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de varfarina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (2)*, em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (4*).

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Dissolver cerca de 1 g de amostra em 10 mL de água. Adicionar 5 mL de ácido nítrico e filtrar. Adicionar, ao filtrado, 2 mL de dicromato de potássio SR e agitar por cinco minutos. Deixar em repouso por 20 minutos. A solução obtida não apresenta coloração azul-esverdeada, quando comparada com o branco.

E. O filtrado utilizado no teste **A.** de *Identificação* satisfaz às reações do íon sódio **(5.3.1.1)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 20 mL de água. A preparação é límpida **(5.2.25)** e incolor **(5.2.12)**.

pH (5.2.19). 7,2 a 8,6. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido acético glacial, cloreto de metileno e cicloexano (20:50:50), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,20 g da amostra em acetona e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 2 mL da *Solução (1)* em 10 mL de acetona.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (2)* em 200 mL de acetona.

Solução (4): dissolver 40 mg de varfarina SQR em acetona e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (5): transferir 10 mg de acenocumarol SQR e 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL, diluir com acetona e completar o volume com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, com exceção da mancha principal, não pode ser mais intensa que a obtida no cromatograma com a *Solução (3)* (0,1%). O teste somente é válido se, no cromatograma obtido com a *Solução (5)*, existirem duas manchas claramente separadas e a mancha do cromatograma obtido com a *Solução (3)* for claramente visível.

Cetonas fenólicas. Pesar, com exatidão, cerca de 1,25 g da amostra, transferir para balão volumétrico de 10 mL e dissolver com hidróxido de sódio 0,5 *M*. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Deixar a solução em repouso por 15 minutos. Medir a absorvância da solução resultante em 385 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,5 *M* para ajuste do zero. A absorvância em 385 nm é de, no máximo, 0,20.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Dissolver 4 g da amostra em 45 mL de água. Adicionar 5 mL de ácido acético glacial e agitar vigorosamente até o precipitado aglomerar. Filtrar e determinar em 25 mL da solução obtida, utilizando ácido acético glacial para o ajuste do pH. No máximo, 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 4,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* **(5.2.14)**. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com hidróxido de sódio 0,01 *M*. Diluir até concentração de 0,001% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 308 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,01 *M* para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{19}H_{15}NaO_4$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando cromatógrafo líquido provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 250 mm e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão pH 7,4: dissolver 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 250 mL de água. Adicionar 160 mL de hidróxido de sódio 0,2 *M* e completar o volume com água até 1000 mL. Ajustar o pH para 7,4 com hidróxido de sódio ou com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de álcool metílico, água e ácido acético glacial (68:32:1).

Diluente: mistura de *Tampão pH 7,4* e acetonitrila (85:15).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra com *Diluente*, para obter solução a 1 mg/mL. Diluir, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 100 µg/mL.

Solução padrão: transferir 25 mg de varfarina SQR para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Tampão pH 7,4* e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos, para obter solução a 1 mg/mL. Completar o volume com *Tampão pH 7,4*. Diluir, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 100 µg/mL.

Solução de resolução: transferir 0,1 g de propilparabeno SQR para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de acetonitrila e deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos. Completar o volume com acetonitrila. Homogeneizar. Transferir 2,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 2,5 mL da *Solução padrão* de 1 mg/mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 100 µg/mL de propilparabeno e de varfarina, respectivamente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre os picos de propilparabeno e de varfarina é, no mínimo, 2,0. O desvio padrão relativo para as áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular o teor de $C_{19}H_{15}NaO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

VARFARINA SÓDICA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 92,5% e, no máximo, 107,5%, da quantidade declarada de $C_{19}H_{15}NaO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Utilizar quantidade do pó equivalente a 200 mg de varfarina sódica, adicionar 50 mL de água, centrifugar e filtrar o sobrenadante. Extrair com 50 mL de éter etílico e transferir a fase aquosa para um segundo funil de separação, descartando a fase orgânica. Ajustar o pH da fase aquosa para 2,5 com ácido clorídrico. Extrair com 50 mL de clorofórmio e transferir a fase orgânica para um terceiro funil de separação. Extrair com 50 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 0,004% (p/v), descartando a fase orgânica. Ajustar o pH da fase aquosa para 2,5 com ácido clorídrico. Filtrar e lavar o precipitado com quatro porções de 5 mL de água. Caso o precipitado não esteja branco ou quase branco, dissolver em um volume mínimo de uma solução de hidróxido de sódio a 0,004% (p/v), diluir até 50 mL com água e repetir o processo de extração. Secar em dessecador, sob pressão reduzida, durante quatro horas. O precipitado satisfaz ao teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Varfarina sódica*.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 30 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{15}NaO_4$ dissolvida no meio, comparando as respostas obtidas com a solução de varfarina SQR na concentração de 0,0005% (p/v), preparada em *Fase móvel*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{19}H_{15}NaO_4$ se dissolvem em 30 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Varfarina sódica*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 25 mg de varfarina sódica para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Diluente* e deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos. Completar o volume com *Diluente*, homogeneizar e filtrar. Diluir, em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 100 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{19}H_{15}NaO_4$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

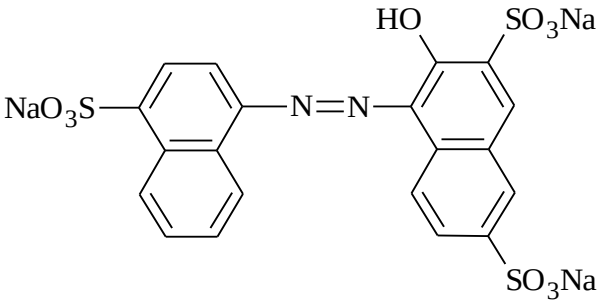
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VERMELHO AMARANTO



$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$; 604,46
CI 16185
vermelho amaranto; 11356
Sal sódico do ácido 3-hidroxi-4-[2-(4-sulfo-1-naftalenil)diazenil]-2,7-naftalenodissulfônico (3:1)
[*915-67-3*]

Contém, no mínimo, 85,0% de $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$ em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, castanho avermelhado, higroscópico. Solução aquosa de cor vinho.

Solubilidade. Solúvel em água, em álcool metílico e em glicerol, pouco solúvel em álcool etílico, insolúvel em éter etílico e em acetona.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, de solução a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), há máximos em 519 nm, 330 nm e 217 nm e mínimos em 360 nm e 310 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de vermelho amaranto SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água e hidróxido de amônio (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em água.

Solução (2): solução a 10 mg/mL de amaranto SQR em água.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 25 mL com água.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ambiente e sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (4,0%).

Chumbo, cobre, estanho, zinco. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13)**. Pesar 2 g da amostra em cadinho de sílica e queimar, brandamente, sobre tela de amianto (± 350 °C); levar à mufla durante 12 horas, sem ultrapassar a temperatura de 450 °C. Remover o cadinho e resfriar. Misturar o resíduo com cerca de 2 mL de água e adicionar duas gotas de nitrato de magnésio a 50% (p/v). Secar sobre chapa elétrica e retornar à mufla durante três a quatro horas ou até que o resíduo esteja branco ou amarelado. Em seguida, resfriar, gotejar 1 mL a 2 mL de ácido nítrico e 1 mL de água e aquecer sobre chapa elétrica até quase secar. Dissolver os nitratos metálicos com 5 mL de água. Se necessário, centrifugar. Levar ao espectrofotômetro de absorção atômica calibrado previamente e realizar a leitura da concentração de cada um dos metais. No máximo, 0,001% (10 ppm) de chumbo, 0,002% (20 ppm) de cobre, 0,025% (250 ppm) de estanho e 0,005% (50 ppm) de zinco.

Cloretos e sulfatos. Pesar 0,5 g da amostra, dissolver em 200 mL de água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV em potenciômetro com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de NaCl.

Pesar 0,5 g da amostra e dissolver com 100 mL de água em banho-maria. Adicionar 35 g de cloreto de sódio, isento de sulfatos e agitar bem. Transferir para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com solução saturada de cloreto de sódio. Homogeneizar. Após uma hora, filtrar por papel de filtro e transferir alíquota de 100 mL do filtrado para béquer de 600 mL, diluir até 300 mL com água e acidificar com ácido clorídrico SR, adicionando leve excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v) ou até que não ocorra mais precipitação. Deixar em repouso durante quatro horas. Separar o sulfato de bário por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado, e calcinar em mufla a 500 °C durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos pela expressão:

$$\frac{\mathrm{N} \times 0{,}6085 \times 100}{\mathrm{p}} = \%\mathrm{sulfatos}$$

em que

N = gramas de sulfato de bário;
p = gramas da amostra usados na precipitação.

No máximo, 5,0% de cloretos e sulfatos.

Substâncias insolúveis em água. Dissolver 5 g da amostra em 200 mL de água quente (80 °C a 90 °C) com agitação. Resfriar à temperatura ambiente. Filtrar por placa filtrante, previamente seca e pesada. Lavar com água fria até que as águas de lavagem se tornem incolores. Secar o filtro com o resíduo, em estufa a 120 °C durante quatro horas e pesar. No máximo, 0,5%.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,0001% (1 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo, 0,004% (40 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 120 °C por quatro horas ou a 135 °C por três horas. No máximo, 10,0%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar solução amostra conforme descrito em *Identificação*. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 519 nm, utilizando acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6) para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$ na amostra a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 564, em 481 nm, em base anidra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

VERMELHO AMARANTO LACA DE ALUMÍNIO

Corante constituído principalmente do sal sódico do ácido 3-hidroxi-4-[2-(4-sulfo-1-naftalenil)diazenil]-2,7-naftalenodissulfônico (3:1) – vermelho amaranto - sobre substrato de alumina.
vermelho amaranto laca de alumínio; 11435
[12227-62-2]

Contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 105% do teor de corante declarado no rótulo.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, vermelho. Higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Solúvel em hidróxido de sódio *M*, porém o corante decompõe-se lentamente em pH alcalino.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, de uma solução contendo a amostra a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), previamente solubilizada em hidróxido de sódio *M*, há máximos em cerca de 519 nm, 330 nm e 217 nm e mínimos em 360 nm e 310 nm, idênticos aos observados no espectro de solução de vermelho amaranto SQR, preparado da mesma maneira.

B. Transferir 0,15 g da amostra para béquer de 60 mL e dissolver com cerca de 20 mL de ácido acético a 30% (p/v) a quente, até que fique apenas opalescente. Esfriar e dividir a solução em dois tubos de ensaio. A um deles, adicionar 2 mL de solução de morina a 3 mg/mL em álcool etílico, recém preparada. Observar a fluorescência verde que se desenvolve sob luz ultravioleta (254 nm), comparando com o tubo sem reativo.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água, solução concentrada de amônia (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções recentemente preparadas como descrito a seguir:

Solução (1): 0,25 g de amostra em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*.

Solução (2): 0,05 g de amaranto SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*.

Solução (3): diluir a *Solução (2)* de modo a obter uma solução a 0,2 mg/mL, com o mesmo diluente.

Solução (4): diluir a *Solução (1)* de modo a obter uma solução a 1 mg/mL, com o mesmo diluente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ambiente e luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade aquela obtida com a *Solução (2)*. As manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* não devem ser mais intensas do que aquelas obtidas com a *Solução (3)* e a *Solução (4)* (4,0%).

Alternativamente pode ser empregada mistura de álcool butílico, água, ácido acético glacial (20:12:5) como fase móvel. Em lugar de sílica gel G pode ser usado papel cromatográfico, utilizando-se as condições anteriormente descritas e observando as manchas também por transparência.

Cloretos e sulfatos. Pesar 10 g da amostra, agitar com 250 mL de água, deixando em contato por 30 minutos. Filtrar. Medir 50 mL do filtrado, equivalente a 2 g da amostra, diluir para 200 mL com água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV em potenciômetro com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de NaCl.

Medir outros 50 mL do filtrado, diluir a 300 mL com água, acidificar com ácido clorídrico SR e mais 1 mL de excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v). Deixar em repouso por quatro horas. Separar o sulfato de bário por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado, e calcinar em mufla a 500 °C durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos pela expressão:

$$\frac{\mathrm{N} \times 0{,}6085 \times 100}{\mathrm{p}} = \%\mathrm{sulfatos}$$

em que

N = gramas de sulfato de bário;
p = gramas da amostra usados na precipitação.

No máximo, 2,0% de cloretos e sulfatos.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar cerca de 0,5 g. Dessecar a amostra a 120 °C por quatro horas ou a 135 °C por três horas. No máximo, 20,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Pesar cerca de 0,1 g da amostra em cadinho previamente seco e pesado e incinerar a 800 °C durante duas horas. Deve conter entre 40,0% e 55,0%.

DOSEAMENTO

Efetuar as diluições como descrito no método **A.** de *Identificação* e ler a absorvância no máximo de absorção em cerca de 519 nm **(5.2.14)**. Calcular o teor do corante pela expressão:

$$\frac{\mathrm{A} \times 100}{436 \times \mathrm{p}} = \%\ \text{de vermelho amaranto na amostra em } 519\ \mathrm{nm}$$

em que

p = peso da amostra em gramas na diluição efetuada.

Alternativamente pode-se considerar A(1%, 1 cm) = 436, em 519 nm.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, protegidos da luz.

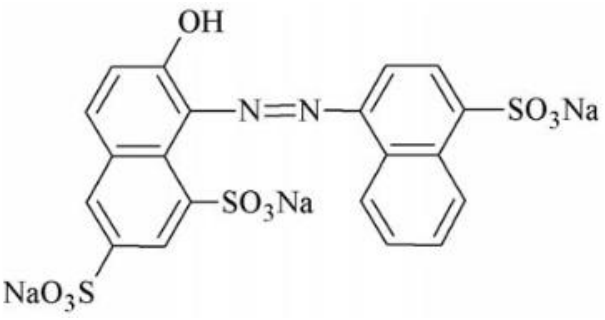
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

VERMELHO DE PONCEAU



$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$; 604,46
CI 16255; E 124
vermelho de ponceau; 11248
Sal sódico do ácido 7-hidroxi-8-[2-(4-sulfo-1-naftalenil)diazenil]-1,3-naftalenodissulfônico (3:1)
[*2611-82-7*]

Contém, no mínimo, 82,0% de $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, vermelho, higroscópico. A solução aquosa é de cor vermelha.

Solubilidade. Solúvel em água e em álcool metílico, insolúvel em álcool etílico, em acetona, em éter etílico e em glicerol.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, de solução a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), há máximos em 507 nm, 332 nm, 245 nm e 215 nm e mínimos em 375 nm, 300 nm e 238 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de vermelho de ponceau SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água e hidróxido de amônia (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 10 mg/mL da amostra em água.

Solução (2): solução a 10 mg/mL de vermelho de ponceau SQR em água.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (2)* para 50 mL com água.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar à luz ambiente e sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (3)* (2,0%).

Chumbo, cobre, estanho, zinco. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13)**. Pesar cadinho de sílica, acrescentar 2 g da amostra e queimar brandamente sobre tela de amianto (± 350 °C); levá-lo à mufla durante 12 horas, sem ultrapassar a temperatura de 450 °C. Remover o cadinho e resfriar. Misturar o resíduo com cerca de 2 mL de água e adicionar duas gotas de nitrato de magnésio a 50% (p/v). Secar sobre chapa elétrica e retornar à mufla durante três a quatro horas ou até que o resíduo esteja branco ou amarelado. Em seguida, resfriar, gotejar 1 mL a 2 mL de ácido nítrico e 1 mL de água e aquecer sobre chapa elétrica até quase secar. Dissolver os nitratos metálicos com 5 mL de água. Se necessário, centrifugar. Levar ao espectrofotômetro de absorção atômica, previamente calibrado, para leitura da concentração de cada um dos metais. No máximo, 0,001% (10 ppm) de chumbo, 0,002% (20 ppm) de cobre, 0,025% (250 ppm) de estanho e 0,005% (50 ppm) de zinco.

Cloretos e sulfatos. Pesar 0,5 g da amostra, dissolver em 200 mL de água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV em potenciômetro com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de NaCl.

Pesar 0,5 g da amostra e dissolver com 100 mL de água em banho-maria. Adicionar 35 g de cloreto de sódio, isento de sulfato, e agitar bem. Transferir para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com solução saturada de cloreto de sódio. Homogeneizar. Após uma hora, filtrar em papel de filtro e transferir alíquota de 100 mL do filtrado para béquer de 600 mL, diluir até 300 mL com água e acidificar com ácido clorídrico SR, adicionando leve excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v), ou até que não ocorra mais precipitação. Deixar em repouso durante quatro horas. Separar o sulfato de bário por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado e calcinar em mufla a 500 °C durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos pela expressão:

$$\frac{\mathrm{N} \times 0{,}6086 \times 100}{\mathrm{p}} = \%\mathrm{sulfatos}$$

em que

N = gramas de sulfato de bário;
p = gramas da amostra usados na precipitação.

No máximo, 8,0% de cloretos e sulfatos.

Substâncias insolúveis em água. Dissolver 5 g da amostra em 200 mL de água quente (80° C a 90 °C) com agitação. Resfriar à temperatura ambiente. Filtrar por placa filtrante, previamente seca e pesada. Lavar com água fria até que as águas de lavagem se tornem incolores. Secar o filtro com o resíduo em estufa a 120 °C durante quatro horas e pesar. No máximo, 0,2%.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método I*. Determinar em 3 g da amostra. No máximo, 0,0001% (1 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. Determinar em 0,5 g da amostra. No máximo, 0,004% (40 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 120 ºC por quatro horas ou a 135 ºC por três horas. No máximo, 10,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar solução amostra conforme descrito em *Identificação*. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 507 nm, utilizando acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6) para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$ na amostra a partir das leituras obtidas. Alternativamente, realizar os cálculos considerando A(1%, 1 cm) = 442,5, em 507 nm, em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

VERMELHO DE PONCEAU, LACA DE ALUMÍNIO

Corante constituído principalmente do sal sódico do ácido 7-hidroxi-8-[2-(4-sulfo-1-naftalenil)diazenil]-1,3-naftalenodissulfônico (3:1) - vermelho de ponceau – sobre substrato de alumina.

Contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 105% da quantidade declarada no rótulo.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, avermelhado. Higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e em álcool etílico. Solúvel em hidróxido de sódio *M*, porém o corante decompõe-se lentamente em pH alcalino.

IDENTIFICAÇÃO

A. No espectro de absorção no ultravioleta e visível **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 700 nm, de solução a 0,001% (p/v) em acetato de amônio 0,02 *M* (pH 5,6), há máximos em 507 nm, 332 nm, 245 nm e 215 nm e mínimos em 375 nm, 300 nm, e 238 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de vermelho de ponceau SQR.

B. Transferir 0,15 g da amostra para béquer de 60 mL e dissolver com cerca de 20 mL de ácido acético a 30% (p/v) a quente, até que fique apenas opalescente. Esfriar e dividir a solução em dois tubos de ensaio. A um deles adicionar 2 mL de solução de morina a 3 mg/mL em álcool etílico, recém preparada. Observar a fluorescência verde que se desenvolve sob luz ultravioleta (254 nm), comparando com o tubo sem reativo.

ENSAIOS DE PUREZA

Corantes subsidiários. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de álcool butílico, álcool etílico, água e hidróxido de amônio (50:25:25:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 2 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): 0,25 g da amostra em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*.

Solução (2): 0,05 g de vermelho de ponceau SQR em 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 *M*.

Solução (3): diluir a *Solução (2)*, de modo a obter solução a 1 mg/mL com o mesmo diluente.

Solução (4): diluir a *Solução (1)*, de modo a obter solução a 0,5 mg/mL, com o mesmo diluente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ambiente e luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde, em posição, cor e intensidade, àquela obtida com a *Solução (2)*. As manchas secundárias obtidas com a *Solução (1)* não devem ser mais intensas do que aquela obtida com a *Solução (3)* e a *Solução (4)* (2,0%).

Cloretos e sulfatos. Pesar 10 g da amostra, agitar com 250 mL de água e deixar em contato por 30 minutos. Filtrar. Medir 50 mL do filtrado, equivalente a 2 g da amostra, diluir para 200 mL com água, acidificar com 8 mL de ácido nítrico a 25% (v/v) e titular com nitrato de prata 0,1 *M* SV em

potenciômetro, com eletrodo combinado de prata. Cada mL de nitrato de prata 0,1 *M* SV equivale a 5,844 mg de NaCl.

Medir outros 50 mL do filtrado, diluir a 300 mL com água, acidificar com ácido clorídrico SR e mais 1 mL de excesso. Aquecer à fervura e gotejar, com agitação, 25 mL de cloreto de bário a 12% (p/v). Deixar em repouso por quatro horas. Separar o sulfato de bário por filtração, lavar com água quente, secar o papel com o resíduo, transferir para cadinho seco, previamente pesado e calcinar em mufla a 500 °C durante uma hora. Resfriar em dessecador e pesar. Calcular o teor de sulfatos pela expressão:

$$\frac{\mathrm{N} \times 0{,}6086 \times 100}{\mathrm{p}} = \%\mathrm{sulfatos}$$

em que

N = gramas de sulfato de bário;
p = gramas da amostra usados na precipitação.

No máximo, 2,0% de cloretos e sulfatos.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar cerca de 0,5 g. Dessecar a amostra a 120 °C por quatro horas ou a 135 °C por três horas. No máximo, 20,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 0,1 g da amostra e calcinar a (800 ± 25) °C. Entre 40,0% e 55,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Espectrometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Efetuar as diluições como descrito no método **A.** em *Identificação* e ler a absorvância do máximo de absorção, em cerca de 507 nm. Calcular o teor do corante pela expressão:

$$\frac{\mathrm{A} \times 100}{442{,}5 \times \mathrm{p}} = \%\ \text{de vermelho de ponceau na amostra em } 507\ \mathrm{nm}$$

em que

p = peso da amostra em gramas na diluição efetuada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes perfeitamente fechados, protegidos da luz.

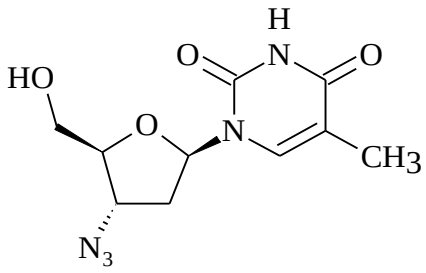
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Corante.

ZIDOVUDINA
Zidovudinum



$C_{10}H_{13}N_5O_4$; 267,25
zidovudina; 09256
3'-Azido-3'-desoxitimidina
[*30516-87-1*]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{10}H_{13}N_5O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino branco a branco amarelado. Apresenta polimorfismo. Temperatura de fusão **(5.2.2)**: em torno de 124 °C.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Rotação óptica específica **(5.2.8)**: +60,5 a +63,0, a 25°C, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

No espectro de absorção no infravermelho **(5.2.14)** da amostra, dispersa em cloreto de potássio, há máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de zidovudina SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da solução. Dissolver 0,5 g em 50 mL de água, aquecendo se necessário. A solução não é mais corada que a mistura de 1 mL da *Solução padrão de cor SC G* **(5.2.12)** com 7 mL de água.

Substâncias relacionadas 1. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**, utilizando sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de álcool metílico e cloreto de metileno (10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 mg de amostra em álcool metílico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): dissolver em álcool metílico 20 mg de timina SQR, 20 mg da impureza A (1-[(2*R*,5*S*)-5-hidroximetil-2,5-di-hidro-2-furil]-5-metilpirimidino-2,4(1*H*, 3*H*)-diona), 20 mg de trifenilmetanol, adicionar 1 mL da *Solução (1)* e diluir para 100 mL com álcool metílico.

Solução (3): diluir 5 mL da *Solução (2)* para 10 mL com álcool metílico.

Desenvolver o cromatograma. Aguardar a ascensão do solvente até 12 cm acima da linha de aplicação. Remover a placa, deixar secar ao ar por cinco minutos e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). No cromatograma obtido com a *Solução (1),* a mancha correspondente à impureza A não é mais intensa do que a mancha correspondente, obtida no cromatograma com a *Solução (3)* (0,5%) e qualquer mancha, com exceção da principal e as manchas correspondentes às impurezas de zidovudina e timina, não são mais intensas do que a mancha correspondente à zidovudina no cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Nebulizar a placa com solução de vanilina a 1% (p/v) em ácido sulfúrico. No cromatograma obtido com a *Solução (1),* qualquer mancha correspondente ao trifenilmetanol não é mais intensa do que a mancha correspondente no cromatograma obtido com a *Solução (3)* (0,5%). O teste é válido se o cromatograma obtido com a *Solução (2)* apresentar quatro manchas claramente separadas, correspondentes à timina, à impureza A, à zidovudina e ao trifenilmetanol, em ordem crescente de fator de retenção (R_f).

Substâncias relacionadas 2. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Fase móvel,* para obter solução a 1 mg/mL.

Solução (2): transferir 0,25 mL da *Solução teste* para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução (3): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de timina SQR em álcool metílico, para obter solução a 0,2 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 20 µg/mL.

Solução (4): dissolver quantidade, pesada com exatidão, da impureza B (1-(3-cloro-2,3-didesoxi-β-*D*ribofuranosil)-5-metilpirimidino-2,4(1*H*,3*H*)-diona) em *Fase móvel*, para obter solução a 0,1 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução* descrita em *Doseamento.* O fator de cauda é, no máximo, 1,5 para o pico de zidovudina e para o pico da impureza B. A resolução entre a zidovudina e a impureza B é, no mínimo, 1,4. O desvio padrão relativo das áreas das replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL de cada umas das soluções descritas acima. Registrar os cromatogramas por 1,5 vezes o tempo de retenção do pico principal obtido com a *Solução (1).* As substâncias são eluídas na seguinte sequência: timina, zidovudina e impureza B. No cromatograma obtido com a *Solução (1),* a área sob qualquer pico correspondente à timina não é maior que a área sob o pico no cromatograma obtido com a *Solução (3)* (2,0%). A área sob qualquer pico correspondente à impureza B, obtido com a *Solução (1),* não é maior que a área sob o pico correspondente, no cromatograma obtido com a *Solução (4)* (1,0%). A área sob qualquer outro pico obtido com a *Solução (1),* com exceção da sob o pico principal, não é maior que a área sob o pico do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,5%). A soma das áreas sob todos os picos, com exceção da sob o pico principal, obtidos com a *Solução (1),* não é maior do que seis vezes a área sob o pico

obtido com a *Solução (2)* (3,0%). Desprezar qualquer pico com área menor do que 10% da área sob o pico obtido no cromatograma da *Solução (2).*

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 1 g da amostra. Transferir para cadinho de sílica e misturar com 0,5 g de óxido de magnésio. Incinerar até a cor se tornar vermelho-escura sobre chama. Prosseguir até obter massa homogênea branca ou cinzenta. Se após 30 minutos de ignição a cor se mantiver, esfriar, misturar a massa no cadinho com bastão de vidro, repetindo, em seguida, a incineração. Incinerar em mufla a 500-600 °C, por aproximadamente uma hora. O resíduo obtido é dissolvido com duas vezes 5 mL de ácido clorídrico 0,2 *M*, acrescentando 0,1 mL de fenolftaleína SI. Adicionar hidróxido de amônio 6 *M* até que se desenvolva a cor rósea. Esfriar. Descorar a solução com ácido acético glacial e acrescentar mais 0,5 mL do ácido. Se necessário, filtrar e diluir a solução com água, para volume de 20 mL. Transferir 12 mL da solução obtida para tubo de Nessler, adicionar 2 mL de tampão acetato pH 3,5 e homogeneizar imediatamente.

Preparação padrão: misturar 2 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm Pb)* a 0,5 g de óxido de magnésio, em cadinho de sílica. Em seguida, secar a mistura em estufa a 105 °C, incinerando logo após. Prosseguir a técnica do preparo da amostra a partir de "O resíduo assim obtido é dissolvido...". A 10 mL da solução obtida adicionar 2 mL da solução da amostra.

Procedimento: em cada um dos tubos referentes à amostra a ao padrão adicionar 1,2 mL de tioacetamida SR. A cor marrom que se desenvolve na amostra não deve ser mais intensa do que a obtida com o padrão. No máximo, 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa entre 100 °C e 105 °C, até peso constante. No máximo, 1,0%.

Resíduo por incineração (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo, 0,25%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 265 nm; coluna cromatográfica 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 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico e água (20:80).

Solução amostra: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da amostra em *Fase móvel* para obter solução a 1 mg/mL. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo solução a 0,2 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de zidovudina SQR em *Fase móvel*, de modo a obter solução a 0,2 mg/mL.

Solução de resolução: transferir 5 mg da impureza B (1-(3-cloro-2,3-didesoxi-β-*D*-ribofuranosil)-5-metilpirimidino- 2,4(1*H*,3*H*)-diona) para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL da *Solução padrão* e completar o volume com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução.* O fator de cauda é, no máximo, 1,5 para o pico de zidovudina e para o pico da impureza B. A resolução entre a zidovudina e a impureza B é, no mínimo, 1,4. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antirretroviral.

ZIDOVUDINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar as cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,3 g de zidovudina para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 50 mL de mistura de álcool metílico e água (75:25), deixar em banho de ultrassom durante cinco minutos e completar o volume com álcool metílico. Deixar decantar e diluir o sobrenadante com mistura de álcool metílico e água (75:25), até concentração de 0,0015% (p/v). No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)** da solução obtida, na faixa de 200 nm a 400 nm, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar, de zidovudina SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar individualmente cada cápsula, transferir o conteúdo para balão volumétrico de 100 mL e pesar novamente. Adicionar 30 mL de mistura de álcool metílico e água (75:25). Deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Diluir com o mesmo solvente até concentração de 0,1 mg/mL.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em mistura de álcool metílico e água (75:25) até concentração adequada e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de timina. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as *Soluções (1)* e *(2)* como descrito a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução amostra* obtida em *Doseamento*.

Solução (2): utilizar a *Solução padrão* obtida em *Doseamento*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade, em miligramas, de timina na amostra a partir da equação:

$$1000 \times C \times \left[\frac{r_1/r_2}{T}\right]$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de timina na *Solução (2)*;
r_1 e r_2 = áreas sob os picos referentes à timina, obtidos nas *Soluções (1)* e *(2)*, respectivamente;
T = quantidade de zidovudina, em miligramas, na massa de pó utilizada para o preparo da *Solução (1)*, conforme determinado em *Doseamento*.

No máximo, 3,0%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 *Doseamento* na monografia de *Zidovudina*. Preparar a *Solução amostra* e a *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 100 mg de zidovudina para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 30 mL de mistura de álcool metílico e água (75:25). Deixar em banho de ultrassom durante 20 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução padrão: dissolver 10 mg de timina em álcool metílico e transferir para balão volumétrico de 50 mL, quantitativamente, e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 1 mL desta solução e 10 mg de zidovudina SQR para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 25 mL de mistura de álcool metílico e água (75:25) e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão.* Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,2 para a timina e 1,0 para a zidovudina. A resolução entre os picos de zidovudina e de timina é, no mínimo, 5,0. O fator de cauda para o pico da zidovudina é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ZIDOVUDINA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Transferir volume da solução injetável equivalente a 20 mg de zidovudina para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com mistura de álcool metílico e água (75:25). Transferir 15 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. No espectro de absorção no ultravioleta **(5.2.14)**, na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução obtida, há máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda da solução similar de zidovudina SQR.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento,* corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,0 a 4,0. Determinar em mistura de volume da solução injetável, contendo 0,15 g de zidovudina e 5 mL de cloreto de potássio 0,12 *M*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 1,0 UE/mg de zidovudina.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de timina. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as *Soluções (1)* e *(2)* como descrito a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução amostra* obtida em *Doseamento*.

Solução (2): utilizar a *Solução padrão* obtida em *Doseamento*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade, em miligramas, de timina na amostra a partir da equação:

$$1000 \times C\left[\frac{r_1/r_2}{Q}\right]$$

em que

C = concentração, em mg/mL, de timina na *Solução (2)*;
r_1 e r_2 = áreas sob os picos referentes à timina obtidos nas *Soluções (1)* e *(2)*, respectivamente;
Q = quantidade de zidovudina, em miligramas, no volume de solução injetável utilizado no preparo da *Solução (1)*.

No máximo, 1,0%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Zidovudina*. Preparar a *Solução amostra* e a *Solução padrão* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, volume da solução injetável equivalente a cerca de 25 mg de zidovudina para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: dissolver 10 mg de timina SQR em álcool metílico e diluir para 50 mL com o mesmo solvente. Transferir 1 mL dessa solução e 10 mg de zidovudina SQR para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 25 mL de mistura de álcool metílico e água (75:25) e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão.* Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,2 para a timina e 1,0 para a zidovudina. A resolução entre os picos de zidovudina e de timina é, no mínimo, 5,0. O fator de cauda para o pico da zidovudina é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ na solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ZIDOVUDINA SOLUÇÃO ORAL

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder como descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**. Utilizar sílica-gel GF_{254}, como suporte, e mistura de ácido butílico, n-heptano, acetona e hidróxido de amônio (40:30:30:10) como *Fase móvel*. Aplicar separadamente, em forma de banda, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 5 mg/mL da amostra em mistura de álcool metílico e água (75:25).

Solução (2): solução a 5 mg/mL de zidovudina SQR em mistura de álcool metílico e água (75:25).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *Solução (2).*

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra* obtida em *Doseamento* corresponde àquele do pico obtido com a *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 3,0 a 4,0. Determinar em volume da solução oral contendo 0,15 g de zidovudina, acrescido de 5 mL de cloreto de potássio 0,12 *M*.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de timina. Proceder como descrito em *Doseamento*. Preparar as *Soluções (1)* e *(2)* como descrito a seguir.

Solução (1): utilizar a *Solução amostra* obtida em *Doseamento*.

Solução (2): utilizar a *Solução padrão de timina* obtida em *Doseamento.*

Procedimento: injetar separadamente, 10 µL das *Soluções (1) e (2),* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A área sob o pico de timina obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, 3,0% da área sob o pico de timina obtido com a *Solução (2).*

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 (240 nm); coluna de 125 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 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetato de sódio 0,04 *M,* álcool metílico, acetonitrila e ácido acético glacial (900:90:10:2).

Solução amostra: transferir volume de zidovudina solução oral equivalente a 0,1 g de zidovudina para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão estoque: solução a 1 mg/mL de zidovudina SQR em *Fase móvel*.

Solução padrão de timina: transferir, quantitativamente, cerca de 20 mg de timina para balão volumétrico de 200 mL. Acrescentar 150 mL de *Fase móvel* e deixar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: transferir 10 mL de *Solução padrão estoque* e 2 mL de *Solução padrão de timina* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Fase móvel*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão.* Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,12 para timina e 1,0 para zidovudina. A resolução entre os picos de zidovudina e de timina é, no mínimo, 4,0. O fator de cauda para o pico da zidovudina é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de zidovudina ($C_{10}H_{13}N_5O_4$) na solução oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ZIDOVUDINA E LAMIVUDINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de zidovudina ($C_{10}H_{13}N_5O_4$) e lamivudina ($C_8H_{11}N_3O_3S$).

IDENTIFICAÇÃO

Os tempos de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no *Doseamento*, correspondem àqueles dos picos principais da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO **(5.1.5)**

Meio de dissolução: água, 900 mL.
Aparelhagem: pás, 50 rpm.
Tempo: 60 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e diluir, se necessário, com *Fase móvel* até concentração adequada. Proceder conforme descrito em *Doseamento*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de zidovudina ($C_{10}H_{13}N_5O_4$) e de lamivudina ($C_8H_{11}N_3O_3S$) se dissolvem em 60 minutos.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (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 270 nm; coluna de 125 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de tampão acetato de amônio 0,1 *M*, álcool metílico e ácido acético glacial (65:35:0,1).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 75 mg de zidovudina e 37,5 mg de lamivudina para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 70 mL de

água e deixar em banho de ultrassom durante 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e filtrar. Transferir 1 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel*, obtendo uma solução a 30 µg/mL de zidovudina e 15 µg/mL lamivudina.

Solução padrão estoque: pesar, com exatidão, cerca de 75 mg de zidovudina SQR e 37,5 mg de lamivudina SQR. Transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de água. Deixar em banho de ultrassom durante 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente, obtendo uma solução de 0,75 mg/mL de zidovudina e 0,375 mg/mL de lamivudina.

Solução padrão: transferir 1 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar com *Fase móvel*, obtendo solução padrão de 30 µg/mL de zidovudina e 15 µg/mL lamivudina.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão.* Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para lamivudina e 1,8 para zidovudina. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de zidovudina e de lamivudina nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Plantas Medicinais

Brasília
2019

PLANTAS MEDICINAIS

ABACATEIRO, folha	PM001-00
ACÔNITO, raiz	PM002-00
ALCACHOFRA, folha	PM003-00
ALCAÇUZ, raiz	PM004-00
ALHO, bulbo	PM005-00
ALOE, exsudato seco	PM006-00
ALTEIA, raiz	PM007-00
AMEIXA, fruto	PM008-00
ANGICO, casca	PM009-00
ANIS-DOCE, fruto	PM010-00
ANIS-ESTRELADO, fruto	PM011-00
ARNICA, flor	PM012-00
AROEIRA, casca	PM013-00
BABOSA, folha	PM014-00
BÁLSAMO-DE-TOLU	PM015-00
BÁLSAMO-DO-PERU	PM016-00
BARBATIMÃO, casca	PM017-00
BAUNILHA, fruto	PM018-00
BELADONA, folha	PM019-00
BENJOIM	PM020-00
BOLDO, folha	PM021-00
CALÊNDULA, flor	PM022-00
CAMOMILA, flor	PM023-00
CANELA-DA-CHINA, casca	PM024-00
CANELA-DO-CEILÃO, casca	PM025-00
CAPIM-LIMÃO, folha	PM026-00
CARDAMOMO, semente	PM027-00
CARQUEJA, caule alado	PM028-00
CÁSCARA-SAGRADA, casca	PM029-00
CASTANHA-DA-ÍNDIA, semente	PM030-00
CENTELA, folha	PM031-00
CHAMBÁ, folha	PM032-00
CHAPÉU-DE-COURO, folha	PM033-00
COENTRO, fruto	PM034-00
CRATEGO, folha e flor	PM035-00
CRAVO-DA-ÍNDIA, botão floral	PM036-00
CÚRCUMA, rizoma	PM037-00
ENDRO, fruto	PM038-00
ESPINHEIRA-SANTA, folha	PM039-00
ESTÉVIA, folha	PM040-00
ESTRAMÔNIO, folha	PM041-00

EUCALIPTO, folha	PM042-00
FUNCHO-AMARGO, fruto	PM043-00
FUNCHO-DOCE, fruto	PM044-00
GARRA-DO-DIABO, raiz	PM045-00
GENCIANA, rizoma e raiz	PM046-00
GENGIBRE, rizoma	PM047-00
GOIABEIRA, folha	PM048-00
GUACO-CHEIROSO, folha	PM049-00
GUARANÁ, semente	PM050-00
HAMAMELIS, folha	PM051-00
HIDRASTE, rizoma e raiz	PM052-00
HORTELÃ-DO-BRASIL, parte aérea	PM053-00
HORTELÃ-PIMENTA, folha	PM054-00
JALAPA, raiz	PM055-00
JUCÁ, casca	PM056-00
JUCÁ, fruto	PM057-00
LARANJA-AMARGA, exocarpo	PM058-00
MACELA, flor	PM059-00
MALVA, flor	PM060-00
MARACUJÁ-AZEDO, folha	PM061-00
MARACUJÁ-DOCE, folha	PM062-00
MEIMENDRO, folha	PM063-00
MELISSA, folha	PM064-00
NOZ-DE-COLA, semente	PM065-00
NOZ-VÔMICA, semente	PM066-00
PITANGUEIRA, folha	PM067-00
PLANTAGO, testa	PM068-00
POLÍGALA, raiz	PM069-00
QUEBRA-PEDRA, parte aérea	PM070-00
QUEBRA-PEDRA, parte aérea	PM071-00
QUILAIA, casca	PM072-00
QUINA-AMARELA, casca	PM073-00
RATÂNIA, raiz	PM074-00
RAUVOLFIA, raiz	PM075-00
RUIBARBO, rizoma e raiz	PM076-00
SABUGUEIRO-DO-BRASIL, flor	PM077-00
SABUGUEIRO, flor	PM078-00
SALGUEIRO-BRANCO, casca	PM079-00
SENE, folha	PM080-00
SENE, fruto	PM081-00
UVA-URSI, folha	PM082-00
VALERIANA, rizoma e raiz	PM083-00

PREPARAÇÕES VEGETAIS – TINTURAS

ACÔNITO, tintura	PM084-00
ANGICO, tintura	PM085-00
ANIS-ESTRELADO, tintura	PM086-00
AROEIRA, tintura	PM087-00
BÁLSAMO-DE-TOLU, tintura	PM088-00
BAUNILHA, tintura	PM089-00
BENJOIM, tintura	PM090-00
BOLDO, tintura	PM091-00
CALÊNDULA, tintura	PM092-00
CAMOMILA, tintura	PM093-00
CANELA-DO-CEILÃO, tintura	PM094-00
CÁSCARA-SAGRADA, tintura	PM095-00
CASTANHA-DA-ÍNDIA, tintura	PM096-00
CÚRCUMA, tintura	PM097-00
GENCIANA, tintura	PM098-00
GUARANÁ, tintura	PM099-00
HAMAMELIS, tintura	PM100-00
JABORANDI, tintura	PM101-00
LARANJA-AMARGA, tintura	PM102-00
NOZ-VÔMICA, tintura	PM103-00
RATÂNIA, tintura	PM104-00
VALERIANA, tintura	PM105-00

PREPARAÇÕES VEGETAIS – EXTRATO FLUIDO

ALCACHOFRA, extrato fluido	PM106-00
ALCAÇUZ, extrato fluido	PM107-00
AMEIXA, extrato fluido	PM108-00
ANGICO, extrato fluido	PM109-00
AROEIRA, extrato fluido	PM110-00
BOLDO, extrato fluido	PM111-00
CALÊNDULA, extrato fluido	PM112-00
CANELA-DO-CEILÃO, extrato fluido	PM113-00
CÁSCARA-SAGRADA, extrato fluido	PM114-00
CASTANHA-DA-ÍNDIA, extrato fluido	PM115-00
CRATEGO, extrato fluido	PM116-00
GENCIANA, extrato fluido	PM117-00
GUARANÁ, extrato fluido	PM118-00
HAMAMELIS, extrato fluido	PM119-00
LARANJA-AMARGA, extrato fluido	PM120-00
NOZ-DE-COLA, extrato fluido	PM121-00
NOZ–VÔMICA, extrato fluido	PM122-00
RATÂNIA, extrato fluido	PM123-00
VALERIANA, extrato fluido	PM124-00

ÓLEOS, GORDURAS E CERAS

ALECRIM, óleo	PM125-00
ALGODÃO, óleo refinado	PM126-00
ANIS-DOCE, óleo	PM127-00
CAMOMILA, óleo	PM128-00
CANELA-DA-CHINA, óleo	PM129-00
CANELA-DO-CEILÃO, óleo	PM130-00
CAPIM-LIMÃO, óleo	PM131-00
CERA DE CARNAÚBA	PM132-00
COENTRO, óleo	PM133-00
CRAVO-DA-ÍNDIA, óleo	PM134-00
EUCALIPTO, óleo	PM135-00
EUCALIPTO-LIMÃO, óleo	PM136-00
FUNCHO, óleo	PM137-00
GIRASSOL, óleo refinado	PM138-00
HORTELÃ-DO-BRASIL, óleo	PM139-00
HORTELÃ-PIMENTA, óleo	PM140-00
LARANJA-AMARGA, óleo	PM141-00
LARANJA-DOCE, óleo	PM142-00
LIMÃO, óleo	PM143-00
MANTEIGA DE CACAU	PM144-00
MELALEUCA, óleo	PM145-00
NOZ-MOSCADA, óleo	PM146-00
OLIVA, óleo virgem	PM147-00
PALMA-ROSA, óleo	PM148-00
TOMILHO, óleo	PM149-00

ABACATEIRO, folha
Persea folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Persea americana* Mill. (syn. *Persea gratissima* Gaertn. f.) contendo, no mínimo, 0,4% de flavonoides totais expressos em apigenina ($C_{15}H_{10}O_5$, 270,24) e 0,14% de óleo volátil.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, elípticas, oblongas ou oval-acuminadas, semi-coriáceas, de margens inteiras, mais ou menos onduladas; lâmina com 8 a 20 cm de comprimento e 4 a 9 cm de largura; pecíolo de até 5 cm de comprimento e 3 a 4 mm de largura na base; quando frescas são de coloração verde-escura na face adaxial, pouco brilhantes e quase lisas, e mais clara, foscas e um tanto ásperas na face abaxial; folhas secas de coloração castanho-clara. Nervura principal proeminente na face abaxial, com nervuras secundárias oblíquas, também proeminentes, dando origem às nervuras terciárias que se anastomosam em fina trama.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar tem simetria dorsiventral e é hipoestomática, com estômatos anomocíticos. A epiderme em vista frontal mostra cutícula granulosa, e na face adaxial é formada por células poligonais com raros tricomas tectores unicelulares, de paredes espessas; a face abaxial é formada por células retangulares ou arredondadas. Os tricomas tectores são frequentes em folhas jovens e raros em folhas adultas. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada em ambas as faces e coberta por cutícula espessa. O mesofilo é formado por uma ou duas camadas de células paliçádicas, apresentando muitos idioblastos secretores de mucilagem e de óleo volátil. O parênquima esponjoso apresenta cerca de seis camadas de células irregulares, com grandes espaços intercelulares. Pode ocorrer uma organização diferenciada no mesofilo, junto aos idioblastos secretores, formada por células parenquimáticas alongadas e achatadas tangencialmente, de paredes espessas. A nervura principal mostra um feixe vascular colateral desenvolvido, envolto por uma bainha esclerenquimática, praticamente contínua. Cristais fusiformes de oxalato de cálcio ocorrem em células parenquimáticas próximas às nervuras. Na base da lâmina foliar, dois outros feixes colaterais pequenos ocorrem junto ao bordo, voltados para a face adaxial.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-escura; fragmentos da epiderme adaxial com células poligonais recobertas por cutícula espessa; fragmentos da epiderme abaxial, contendo células retangulares e estômatos anomocíticos; tricomas tectores inteiros acompanhados de células epidérmicas ou isolados; fragmentos de tricomas tectores; fragmentos do mesofilo com idioblastos secretores; fragmentos de nervura, como descrita, acompanhados de células contendo cristais fusiformes.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

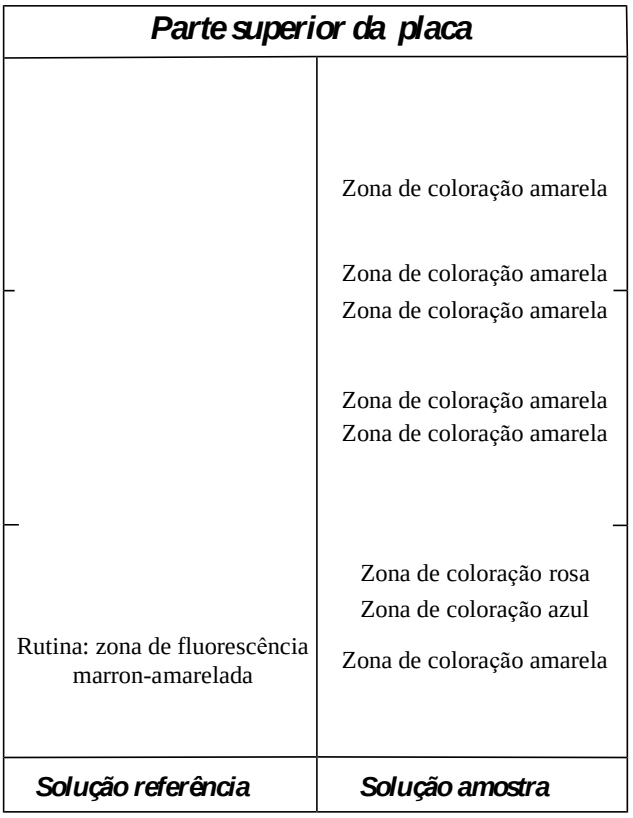
Fase móvel: acetato de etila, álcool isopropílico, água e ácido fórmico (300:17:13:0,1).

Solução amostra: preparar tintura 20% (p/v) das folhas pulverizadas com álcool etílico a 65% (v/v) por maceração ou percolação.

Solução referência: rutina a 1 mg/mL 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, deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 ºC 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 por 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.



TESTES

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 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

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. Utilizar planta seca rasurada e não contundida. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil a partir de 100 g da droga rasurada. Destilar por quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

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 0,5 g da droga pulverizada (800 µm) **(5.2.11)** e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar à droga 1 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 30 mL de solução de álcool etílico a 50% (v/v) e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer em manta de aquecimento por 30 minutos, sob refluxo. Filtrar a mistura em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Retornar o resíduo da droga e o algodão ao balão de fundo redondo, adicionar mais 30 mL de solução de álcool etílico a 50% (v/v) e aquecer novamente, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar em algodão para o mesmo balão volumétrico de 100 mL. Repetir a operação, retornar o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 30 mL de solução de álcool etílico a 50% (v/v), aquecer sob refluxo, por 15 minutos e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 100 mL. Após resfriamento, completar o volume do balão volumétrico de 100 mL com solução de álcool etílico a 50% (v/v).

Solução amostra: adicionar 10 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com 2 mL de solução de cloreto de alumínio a 5% (p/v) em solução de álcool etílico a 50% (v/v) e completar o volume com solução de álcool etílico a 50% (v/v). Após 30 minutos fazer a leitura.

Solução branco: adicionar 10 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de álcool etílico a 50% (v/v).

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. O teor de flavonoides totais, expressos em apigenina, em porcentagem, é calculado segundo a expressão:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 250}{m \times 336{,}5}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em apigenina % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

250 = fator de diluição;
m = massa em gramas da amostra utilizada considerando a perda por dessecação;
336,5 = coeficiente de absorção específica da apigenina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado protegido da luz e do calor.

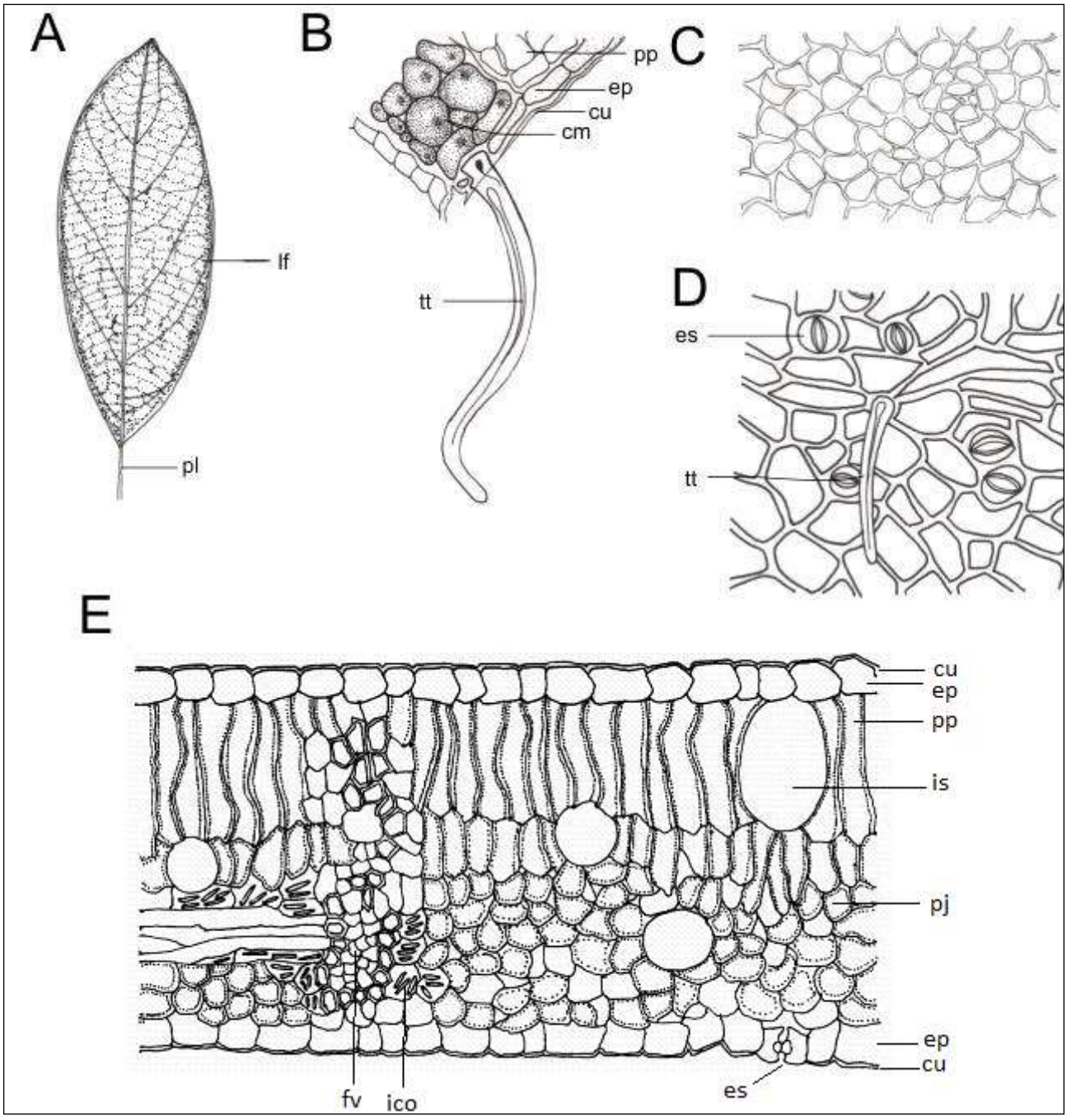


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópidos em *Persea americana* Mill.

As escalas correspondem em A a 5 mm; em B, C e D a 20 µm; e em E a 50 µm.
A – folha em vista frontal: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). **B –** detalhe parcial da epiderme voltada para a face abaxial, em secção transversal: parênquima paliçádico (pp); epiderme (ep); cutícula (cu); célula contendo mucilagem (cm); tricoma tector (tt). **C –** detalhe parcial da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal. **D –** detalhe parcial da epiderme

voltada para a face abaxial, em vista frontal: estômato (es); tricoma tector (tt). **E –** detalhe de porção da lâmina foliar, em secção transversal: cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); idioblasto secretor (is); parênquima esponjoso (pj); estômato (es); idioblasto com cristais de oxalato de cálcio (ico); feixe vascular (fv).

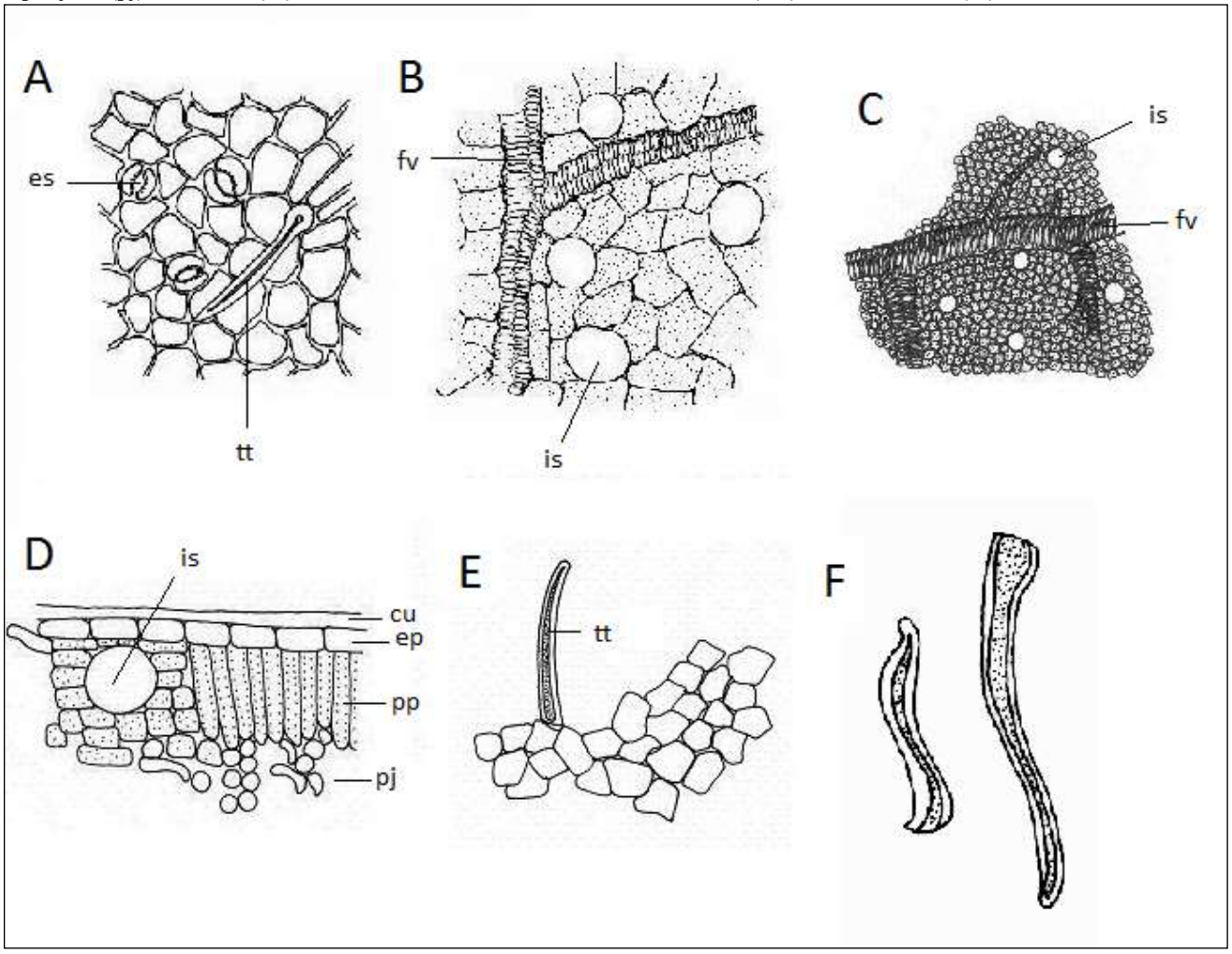


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Persea americana* Mill.

As escalas correspondem em A, D, E e F a 20 µm; B a 30 µm; e em C a 100 µm.

A – da epiderme voltada para a face abaxial: estômato (es); tricoma tector (tt). **B** e **C –** fragmentos da lâmina foliar, em vista frontal, com destaque para feixe vascular e idioblastos secretores: feixe vascular (fv); idioblasto secretor (is). **D –** fragmento da lâmina foliar em secção transversal, mostrando idioblasto secretor acompanhado de células com conformação diferenciada: idioblasto secretor (is); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj). **E –** fragmento da epiderme: tricoma tector (tt). **F –** fragmentos de tricomas tectores.

ACÔNITO, raiz
Aconiti radix

A droga vegetal consiste de raízes tuberosas de *Aconitum napellus* L., contendo, no mínimo, 0,5% de alcaloides totais expressos em aconitina ($C_{34}H_{47}NO_{11}$, 645,74), calculados em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Raiz tuberosa, cônica, de coloração cinza-escura ou amarronzada na superfície, com 3 a 12 cm de comprimento e 1 a 3 cm de largura na porção superior, onde se observam restos da base do caule; podem ocorrer raízes laterais tuberosas, também cônicas, ou suas cicatrizes junto à porção superior da raiz principal, ligadas entre si por um pedículo delgado, e numerosas raízes laterais não tuberosas, ou suas cicatrizes, distribuídas ao longo das raízes tuberosas. Internamente, as raízes tuberosas são de coloração parda ou castanho-clara.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, a raiz apresenta quatro ou mais camadas de células alongadas transversalmente, de paredes suberificadas, relativamente espessas e de coloração alaranjada, correspondentes à periderme, seguidas de células corticais parenquimáticas com alguns grãos de amido; segue endoderme constituída por células alongadas no sentido transversal, de paredes suberizadas que mostram coloração vermelho-alaranjada quando coradas com Sudan III; o periciclo é formado por mais de 20 camadas de células parenquimáticas preenchidas com grãos de amido. O câmbio vascular tem formato de estrela e o floema secundário não é facilmente distinguível entre as células parenquimáticas do periciclo. O xilema secundário forma feixes intercalados por parênquima amilífero. Os elementos de vaso do xilema secundário são relativamente estreitos e apresentam placas de perfuração simples e paredes reticuladas ou pontoadas.

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 com a região central menos densa e, portanto, com coloração mais clara, isolados ou agrupados; fragmentos de súber em vista frontal com células de paredes poligonais e coloração amarronzada; fragmentos de células parenquimáticas com grãos de amido; fragmentos de elementos de vaso com placas de perfuração simples e parede reticulada ou pontoada.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}, com espessura de 250 µm.

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e dietilamina (35:10:5).

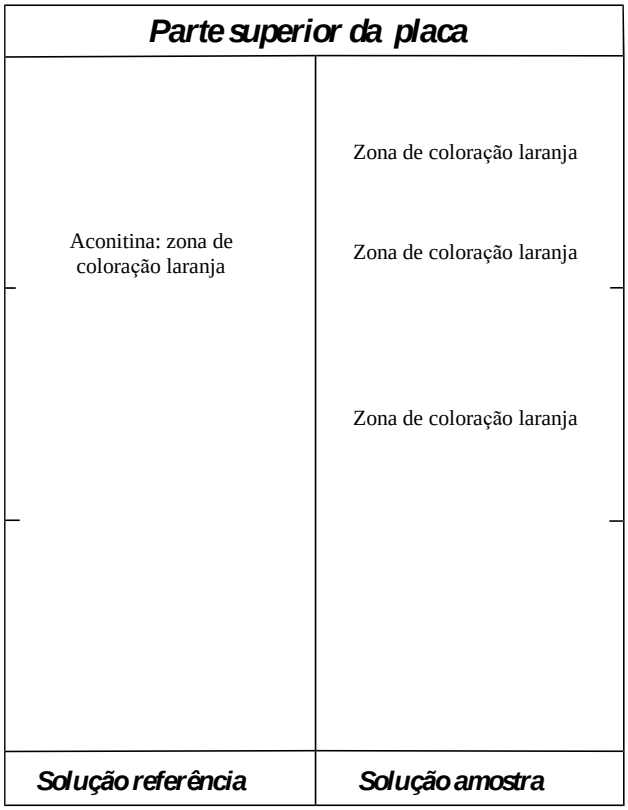
Solução amostra: pesar 3 g da droga pulverizada e transferir para balão de fundo redondo, adicionar uma mistura de 2 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 40 mL de água. Aquecer a mistura em banho-maria, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar e adicionar a solução de hidróxido de amônio 6 *M* até obtenção de pH 9,0. Transferir o filtrado 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, em banho-maria a 50

ºC. 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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de iodeto de potássio e subnitrato 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.



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 11,0%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Alcaloides totais expressos em aconitina

Solução amostra: pesar 2 g da droga vegetal, transferir para um erlenmeyer e adicionar 1,6 mL de hidróxido de amônio 40% (v/v) e 20 mL de éter etílico. Deixar em agitador magnético por 30 minutos. Tampar o frasco com papel alumínio. Após o processo de extração, separar a fase etérea, e adicionar ao resíduo, 0,8 mL de hidróxido de amônio 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 a 50 ºC. Retomar o resíduo em 5 mL de álcool etílico absoluto e adicionar 30 mL de água recém-fervida, utilizar em temperatura ambiente.

Solução indicadora: pesar, separadamente, 0,1 g de vermelho de metila e 0,1 g de cloreto de metiltionínio, 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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{V} \times 6{,}037 \times 0{,}1}{m}$$

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 droga utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

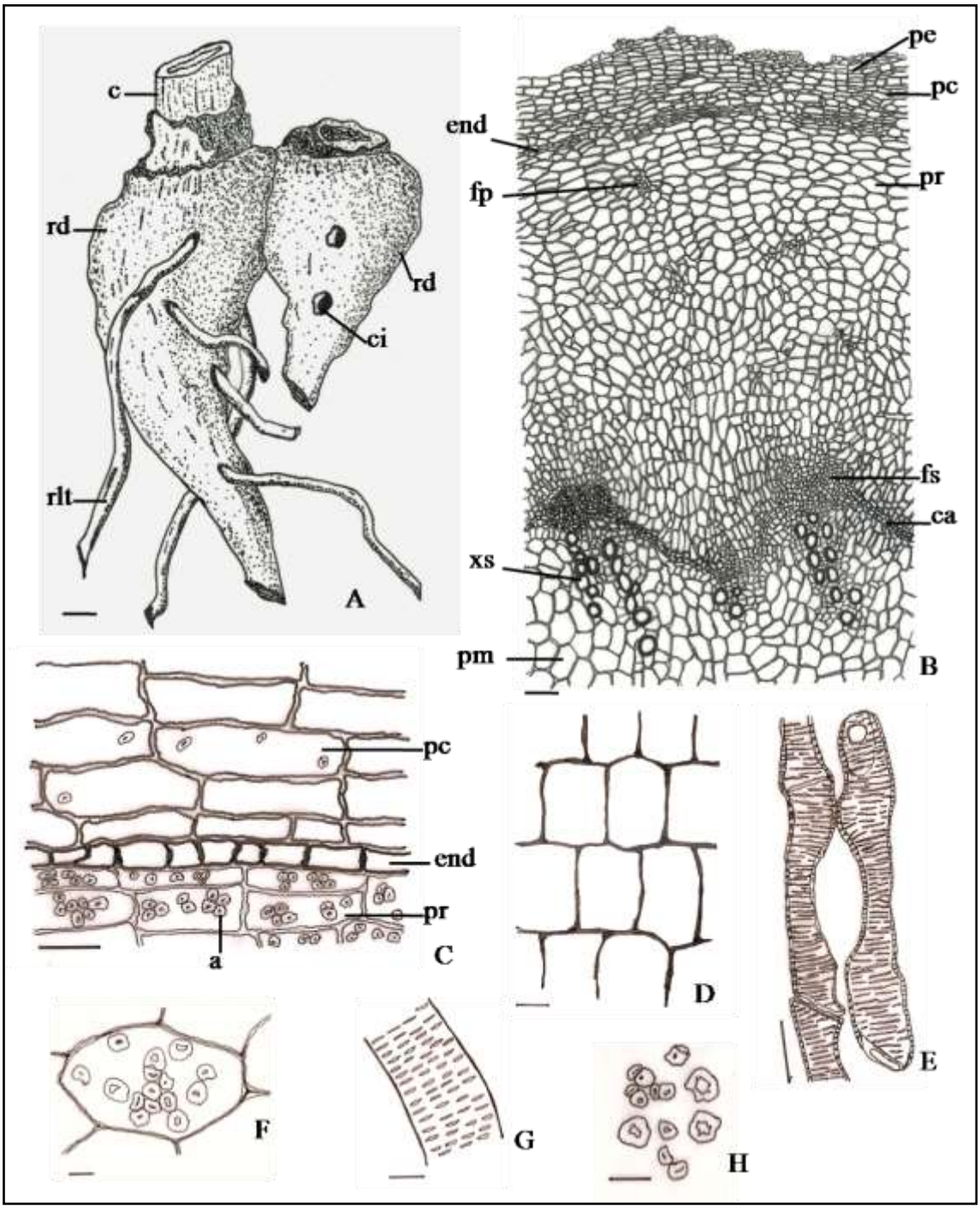


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Aconitum napellus* L.

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** a 100 µm; em **C**-**E** a 50 µm; em **F**-**H** a 20 µm.
A – raízes adventícias tuberosas (rd) oriundas da base do caule (c) mostrando raízes laterais (rlt) e cicatrizes (ci). **B** - representação da raiz tuberosa em secção transversal: periderme (pe); parênquima cortical (pc); endoderme (end); parênquima do periciclo (pr); floema primário (fp) e secundário (fs); câmbio vascular (ca); xilema secundário (xs) e parênquima amilífero (pm). **C** - detalhe da endoderme com paredes espessadas (end) e das células de parênquima com amido (a) no córtex (pc) e no periciclo (pr). **D** - fragmento da periderme (súber) com células de formato poligonal em vista frontal. **E** - elementos de vaso com placa de perfuração simples e paredes reticuladas. **F** - célula parenquimática com grãos de amido. **G** - elemento de vaso pontoado. **H** - grãos de amido agrupados e isolados.

ALCACHOFRA, folha
Cynarae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras ou fragmentadas de *Cynara scolymus* L., contendo, no mínimo, 0,7% de ácido clorogênico ($C_{16}H_{18}O_9$, 354,31).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, as jovens sésseis e as adultas com pecíolo curto. Folhas totalmente desenvolvidas com 70 a 120 cm de comprimento e 30 a 55 cm de largura. A lâmina é pinatissecta (ou partida), com margem dentada. A folha é pilosa, sendo o indumento adpresso e pubescente na face adaxial e adpresso e velutino na face abaxial. A face adaxial é verde e a face abaxial é acinzentada ou esbranquiçada. As nervuras, de maneira geral, são proeminentes e sinuosas na face abaxial, em secção transversal, em função do desenvolvimento dos feixes vasculares.

B. Descrição microscópica

A folha é anfiestomática e de simetria dorsiventral. Em secção transversal, a epiderme apresenta uma única camada de células, sendo as células da face adaxial maiores do que as da face abaxial. Em ambas as faces, as células epidérmicas apresentam cutícula e paredes delgadas. As células-guarda apresentam cristas estomatíferas, e estão localizadas, geralmente, acima do nível das demais células epidérmicas, em especial na região da nervura principal e na face abaxial das alas. Os tricomas tectores unisseriados e pluricelulares são abundantes, principalmente na face abaxial. Podem apresentar uma das células colapsadas e geralmente aparecem dobrados ou enrolados. Os tricomas glandulares ocorrem em ambas as faces da epiderme, porém são menos abundantes que os tricomas tectores. O mesofilo apresenta duas a três camadas de parênquima paliçádico e cinco a oito camadas de parênquima esponjoso, com espaços intercelulares evidentes. Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por endoderme. O tecido vascular forma feixes colaterais circundados por tecido esclerenquimático. A nervura principal apresenta formato lobado na face abaxial. Na região dos lóbulos, logo abaixo da epiderme, há duas ou mais camadas de células parenquimáticas seguidas de colênquima angular. Estes feixes se distribuem ao redor do parênquima medular que, frequentemente se apresenta fistuloso. Em vista frontal, os estômatos são anomocíticos e as paredes das células epidérmicas comuns são retas; os tricomas glandulares são do tipo capitado e apresentam cabeça secretora unicelular com pedicelo unicelular ou bicelular.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração cinza-esverdeada; fragmentos da face adaxial e abaxial da epiderme em vista frontal com células poligonais de paredes retas e presença de estômatos. Fragmentos de elementos de vaso com paredes anelares e reticuladas. Fragmentos de tricomas tectores dobrados e enrolados. Tricomas glandulares. Fragmentos grandes de coloração esverdeada e fragmentos de elementos de vaso e de parênquima clorofiliano.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}.

Fase móvel: acetato de etila, água, ácido acético e ácido fórmico (100:26:11:11).

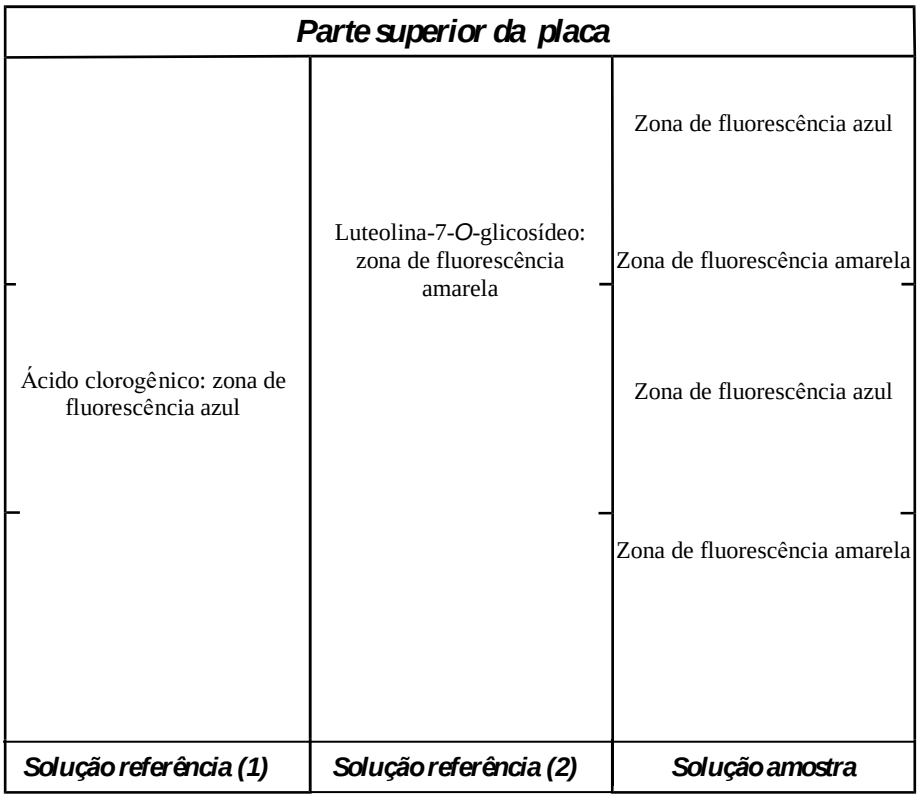
Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 20 mL de álcool etílico a 70% (v/v) e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar, secar o extrato sob pressão reduzida, até resíduo, em temperatura inferior a 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de álcool etílico a 70% (v/v).

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer a placa entre 100 ºC e 105 °C durante 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)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.



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 20,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). 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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Derivados 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 quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Eluente (A): água, acetonitrila e ácido fosfórico (92,6:7:0,4).

Eluente (B): acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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: pesar, com exatidão, cerca de 0,50 g da droga vegetal pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 50 mL de álcool metílico. Aquecer a solução, sob refluxo, a 70 ºC por 60 minutos. Deixar a amostra esfriar e filtrar a solução com algodão. Transferir o resíduo e o algodão para o balão de fundo redondo e adicionar 50 mL de álcool metílico. Aquecer novamente, sob refluxo, a 70 ºC por 60 minutos. Filtrar a solução, reunir os filtrados e transferir para um balão volumétrico de 200 mL. Completar o volume com água. 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 o pico do ácido clorogênico. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r}{\mathrm{A}_r \times m_a \times 100}$$

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 da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

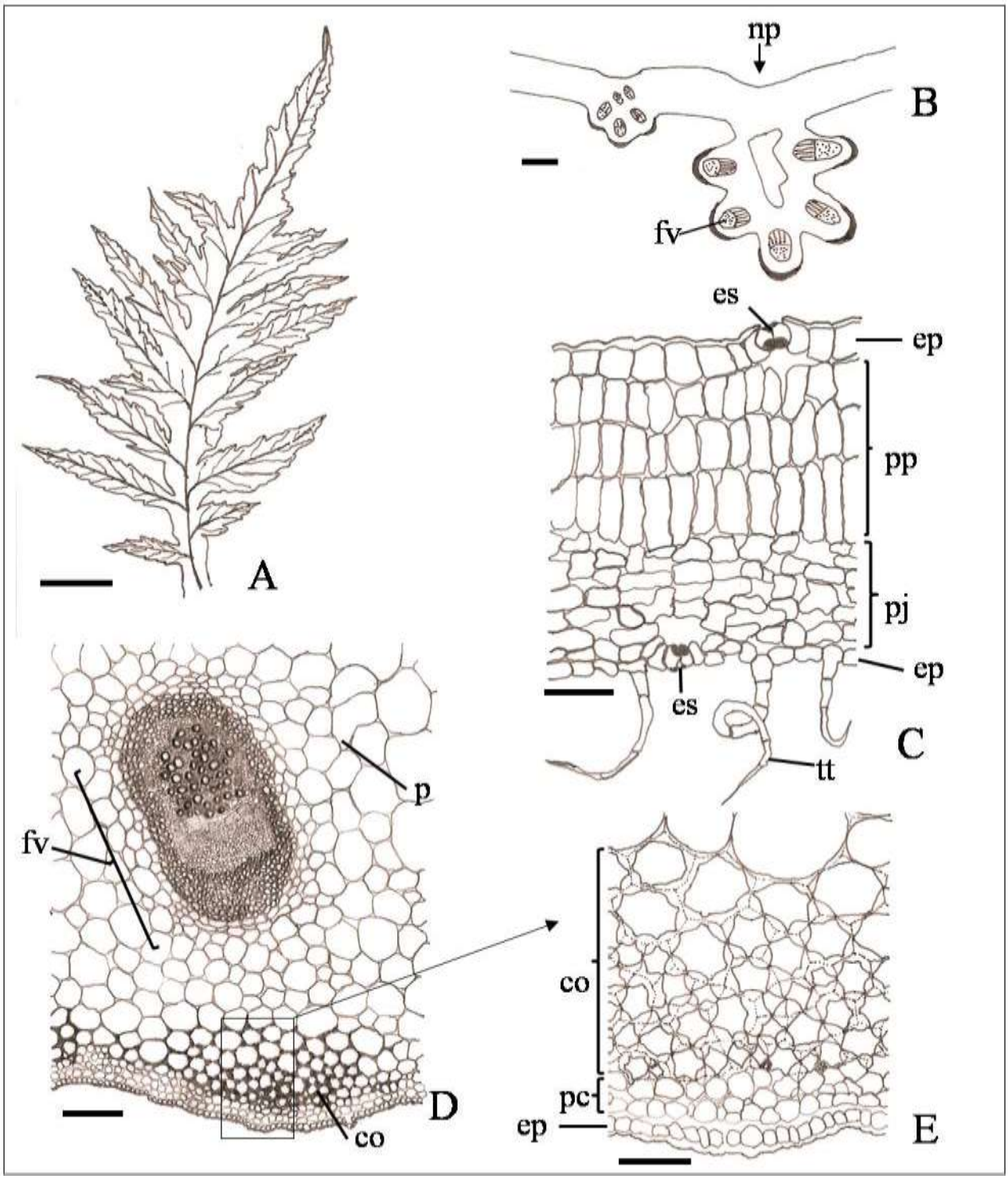


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cynara scolymus* L.

As escalas correspondem em A a 10 cm; B a 200 µm; C-D a 100 µm; E a 50µm.

A - aspecto geral da folha em vista frontal. **B** - representação esquemática da lâmina foliar em secção transversal: feixe vascular (fv); nervura principal (np). **C** - detalhe do mesofilo em secção transversal: epiderme (ep); estômato (es); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma tector (tt). **D** - detalhe da nervura secundária: colênquima angular (co); feixe vascular (fv); parênquima (p). **E** - detalhe do colênquima angular (co), parênquima cortical (pc) e epiderme (ep).

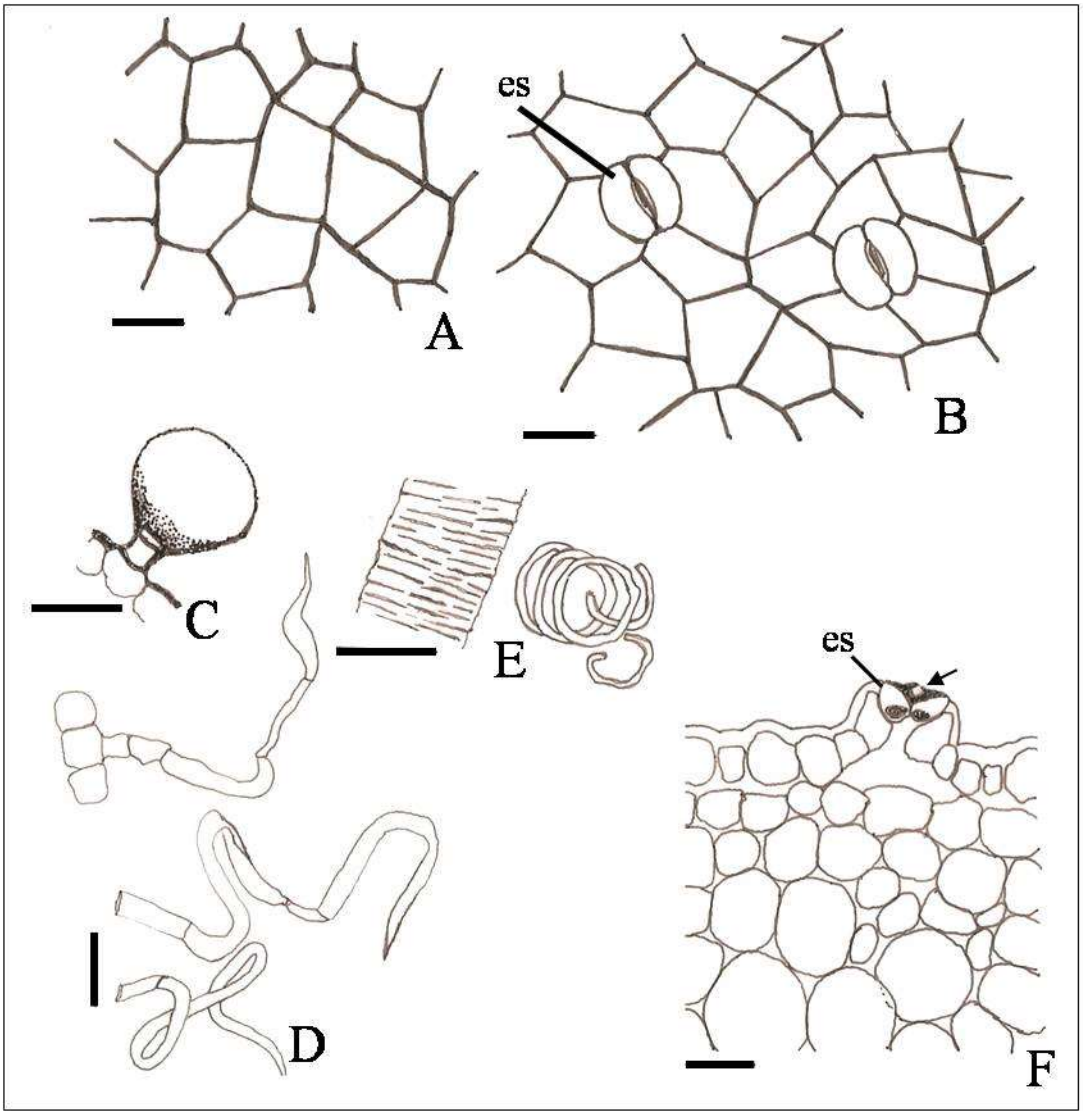


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Cynara scolymus* L.

As escalas correspondem a 50 µm.

A - fragmento da face adaxial da epiderme, em vista frontal. **B** - fragmento da face abaxial da epiderme, em vista frontal; estômato anomocítico (es). **C** – tricoma glandular. **D** – tricoma tector e fragmentos de tricomas tectores. **E** – fragmentos de elementos de vaso, com espessamento reticulado e anelado, respectivamente. **F** – fragmento da região da nervura de maior calibre, com destaque para o estômato (es), com uma crista estomatífera (seta).

ALCAÇUZ, raiz
Liquiritiae radix

A droga vegetal consiste de raízes e estolões secos de *Glycyrrhiza glabra* L., inteiros ou fragmentados, contendo, no mínimo, 2,5% de ácido glicirrizínico ($C_{42}H_{62}O_{16}$, 822,94), calculado em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fragmentos de raízes e estolões possuem de 5 a 25 mm de diâmetro e comprimentos variados, alcançando até 20 cm. A casca é de coloração castanho-escura, rugosa, marcada por estrias longitudinais e lenticelas transversais. A fratura da raiz e estolões é fibrosa.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, a periderme das raízes e estolões apresenta várias camadas de súber, com células retangulares. As células da feloderme são maiores que as do súber e podem conter grãos de amido. Internamente à periderme, o córtex é formado por parênquima amilífero com feixes de fibras esclerenquimáticas remanescentes do floema primário e floema secundário inativo, cujas células foram obliteradas. O floema secundário apresenta-se em fileiras compostas por elementos de tubo crivado e células companheiras, parênquima do floema e feixes de fibras, intercaladas por parênquima radial amilífero em uma ou até cinco fileiras. Os grãos de amido são arredondados ou ovais. O câmbio vascular é bem visível e formado por células retangulares. O xilema secundário também se apresenta em fileiras compostas por células traqueais, parênquima não lignificado e feixes de fibras, intercaladas por parênquima radial contínuo com o do floema secundário, porém, com número menor de fileiras. Uma pequena região medular parenquimática é encontrada nos estolões, mas está ausente nas raízes. Em secção longitudinal, os feixes de fibras do floema e do xilema estão envolvidos por uma camada de idioblastos contendo cristais prismáticos, a qual é circundada por uma bainha de células parenquimáticas sem grãos de amido.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelo-acinzentada ou parda; abundância de grãos de amido de formato oval a arredondado, isolados ou agrupados e cristais prismáticos geralmente trapezoidais; fragmentos de células parenquimáticas ou células inteiras contendo grãos de amido; fragmentos de súber com células poligonais em vista frontal e de coloração castanho-alaranjada; fragmentos de fibras septadas de paredes levemente espessas, isoladas ou em feixes circundados por idioblastos contendo cristais; fragmentos de elementos de vaso com paredes areoladas.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}

Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (7:2:1).

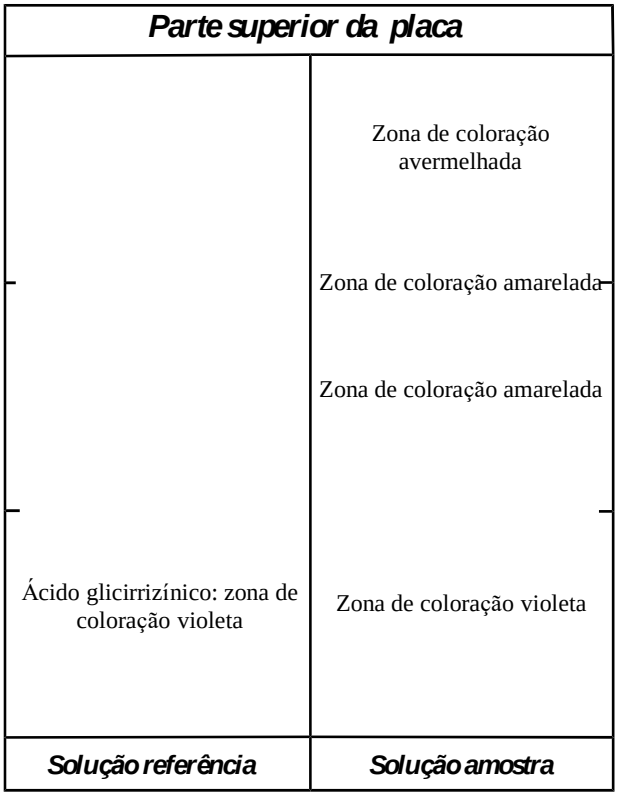
Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 20 mL de álcool metílico a 70% (v/v) e levar ao banho-maria durante 15 minutos. Filtrar, secar o extrato em banho-maria até resíduo, em

temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido glicirrizínico em álcool metílico a 70% (v/v), para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco minutos. 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.



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 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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). 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)*.

Diluente: transferir 28,57 mL de hidróxido de amônio a 28% (v/v) para balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água destilada e homogeneizar.

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 *Diluente*.

Solução referência: transferir 7 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o *Diluente*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μm.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal pulverizada e transferir para um erlenmeyer de 150 mL. Adicionar 100 mL do *Diluente*. Levar a solução ao ultrassom por 30 minutos, agitando o erlenmeyer a cada 10 minutos. Retirar 10 mL da solução e centrifugar por 10 minutos. Em seguida pipetar 1 mL do sobrenadante, transferir para um balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com o *Diluente* e homogeneizar. 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 ácido glicirrizínico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times \mathrm{C}_r \times 100 \times 5 \times 822{,}94}{\mathrm{A}_r \times \mathrm{m}_a \times 839{,}97}$$

em que,

TA = teor de ácido glicirrizínico % (p/p);
A_a = área sob o pico correspondente ao ácido glicirrizínico na *Solução amostra*;
A_r = 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_a = massa, em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

822,94 = massa molecular do ácido glicirrizínico;
839,97 = massa molecular do glicirrizinato de amônio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

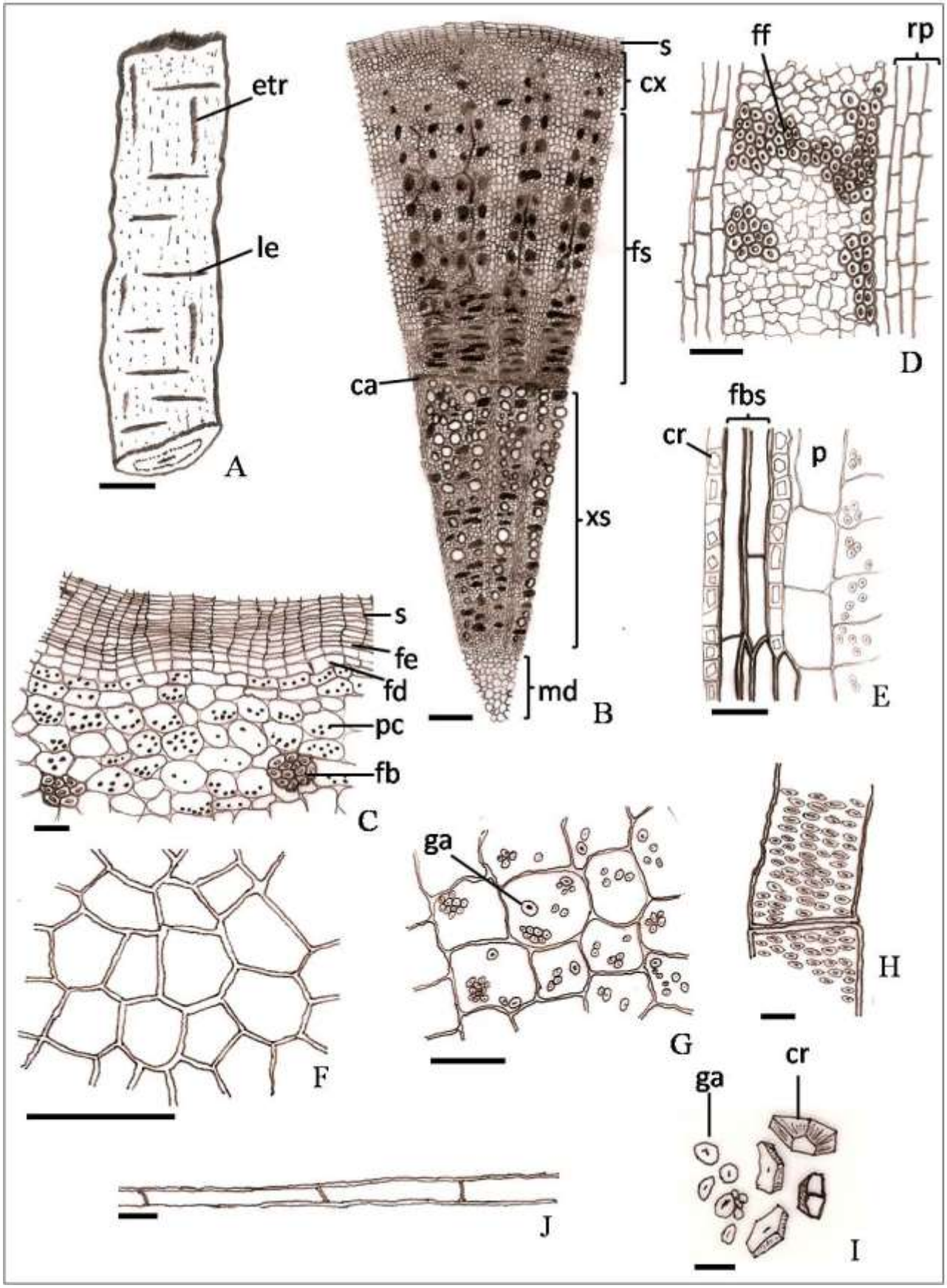


Figura 1– Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Glycyrrhiza glabra* L.

As barras correspondem em **A** a 1 cm; **B** a 250 µm; **F** a 100 µm; **C-E, G** a 50 µm; **H-J** a 20 µm.

A- parte da raiz com detalhe para as estrias longitudinais (etr) e lenticelas (le). **B-** secção transversal do estolão: córtex (cx); câmbio vascular (ca); floema secundário (fs); medula (md); súber (s) e xilema secundário (xs). **C-** detalhe da periderme e

córtex: feloderme (fd); felogênio (fe); feixe de fibras esclerenquimáticas (fb); parênquima cortical com grãos de amido (pc) e súber (s). **D-** detalhe do floema secundário: feixe de fibras do floema (ff) e raio parenquimático (rp). **E-** secção longitudinal mostrando feixe de fibras septadas (fbs), idioblastos com cristais prismáticos (cr) e bainha parenquimática (p). **F-** fragmento da periderme com células de paredes retas e levemente espessadas. **G-** fragmento do parênquima cortical com grãos de amido (ga). **H-** fragmento de elemento de vaso com pontoações areoladas. **I-** grãos de amido (ga) agrupados e isolados e cristais prismáticos (cr). **J-** fragmento de fibra septada.

ALHO, bulbo
Allii sativi bulbus

A droga vegetal consiste de bulbo ou bulbilhos de *Allium sativum* L., maduros liofilizados ou secos à temperatura inferior a 65 °C, desprovidos de raízes, caule, folhas normais, folhas protetoras escamosas e prófilos escariosos, contendo, no mínimo, 0,45% de alicina ($C_6H_{10}OS_2$, 162,26).

CARACTERÍSTICAS

Os bulbos ou bulbilhos têm odor aliáceo forte.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O bulbo subgloboso é composto de seis a 20 bulbilhos (dentes-de-alho), de diferentes tamanhos, envoltos por várias folhas protetoras escamosas, esbranquiçadas ou rosadas, inteiras e membranáceas, que se destacam facilmente. Os bulbilhos estão inseridos em um caule discoide e achatado, prolongado por um escapo, com numerosas raízes adventícias fibrosas, amarelo-esbranquiçadas na face inferior. O bulbilho tem coloração esbranquiçada, rósea ou violácea, é ovoide, comprimido lateralmente, ligeiramente arqueado, assimétrico, com três a quatro lados, com a face externa convexa, as faces laterais planas e a face interna plano-côncava; a porção inferior mostra a cicatriz de sua inserção no caule. Cada bulbilho é envolvido por um prófilo escarioso, que circunda um catáfilo de reserva (raro dois), carnoso e suculento. O prófilo escarioso é liso, cartilaginoso, brilhante, e mais ou menos resistente. O catáfilo carnoso corresponde à droga; quando seccionado transversalmente apresenta uma região externa esbranquiçada mais ampla e uma região mais interna, estreita, amarelada a amarelo-esverdeada, correspondente aos primórdios foliares.

B. Descrição microscópica

O catáfilo de reserva, em vista frontal, mostra células retangulares ou quadrangulares, de paredes levemente ondeadas. Em secção transversal, exibe uma cutícula fina e lisa e epiderme externa uniestratificada, formada por células retangulares a quadrangulares de paredes finas, exceto a periclinal externa que é mais espessa. O parênquima fundamental é mucilaginoso e constituído por grandes células incolores, arredondadas, de paredes finas, com núcleos visíveis, muitas delas com conteúdo granuloso. Nesse tecido ocorrem numerosos feixes vasculares colaterais, dispostos irregularmente, frequentemente anastomosados e apresentando uma ou duas bainhas parenquimáticas de células com conteúdo amarelo-claro, quando observadas sem a utilização de corante. Laticíferos não facilmente identificáveis acompanham os feixes vasculares ou ocorrem isoladamente. A epiderme interna do catáfilo também é uniestratificada e consiste de células quadrangulares muito menores do que as da epiderme externa, com cutícula fina, delimitando a região dos primórdios foliares. Em vista longitudinal, os elementos de vaso têm espessamento de parede helicoidal ou anelado. Os laticíferos são formados por células elípticas curtas, dispostas em série, com conteúdo granuloso pardo a castanho-escuro, quando submetidos a corante. Não ocorrem grãos de amido.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração esbranquiçada, amarelo-esbranquiçada a rosado-

esbranquiçada; porções da epiderme do catáfilo de reserva; numerosos fragmentos com grandes células de parênquima de paredes finas e conteúdo granuloso; laticíferos; elementos de vaso lignificados, com espessamento de parede helicoidal ou anelado; elementos de vaso acompanhados de células de paredes finas; como impurezas, porções da epiderme dos prófilos escariosos em vista frontal, porções da epiderme dos prófilos em secção transversal e cristais prismáticos de diferentes formas.

D. Descrição microscópica das impurezas

O prófilo escarioso, se presente como impureza, em vista frontal, apresenta células alongadas e de paredes retas. Em secção transversal, na face externa ou abaxial, ocorre uma cutícula fina e lisa, seguida de epiderme uniestratificada, formada por células esclerificadas, retangulares a quadrangulares, de paredes muito espessas, com pontoações conspícuas e comumente com cristais prismáticos de oxalato de cálcio de diferentes formas. Abaixo dessa ocorre uma ou duas camadas de células hialinas, achatadas tangencialmente, de paredes espessas e não esclerificadas, com grande quantidade de cristais e um parênquima desprovido de cloroplastídios, formado por células elípticas no sentido tangencial, intercalado por feixes vasculares pequenos, do tipo colateral. A epiderme voltada para a face interna ou adaxial tem as mesmas características que a da face abaxial.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

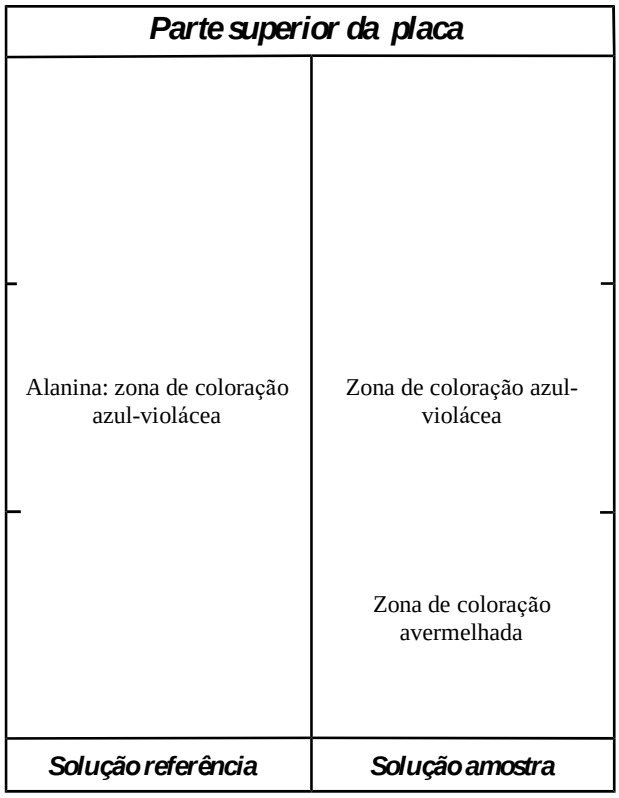
Fase móvel: álcool etílico anidro, ácido acético glacial, propanol e água (4:2:2:2:).

Solução amostra: adicionar 5 mL de álcool metílico a 1 g da droga pulverizada (355 µm) **(5.2.11)** e agitar durante um minuto. Filtrar, recolher 1 mL e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: diluir 2,5 mg de alanina em 5 mL de água e completar o volume com álcool metílico para 10 mL.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com ninidrina SR, aquecer entre 100 ºC 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.



TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Amido (5.4.1.2). Reações histoquímicas. Não deve haver desenvolvimento de coloração azul.

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

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico*. No máximo 7,0%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Alicina

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 250 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 0,8 mL/minuto. Sistema isocrático, o tempo de análise deve ser de 20 minutos.

Fase móvel: álcool metílico e ácido fórmico anidro a 1% (v/v) (75:25).

Solução de padrão interno: transferir, quantitativamente, cerca de 20 mg, pesados com exatidão, de *p*-hidroxibenzoato de butila, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com mistura de álcool metílico e água (50:50) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,8 g do bulbo do alho liofilizado ou seco em pó (355 µm) **(5.2.11)** a temperatura inferior a 65 °C, e adicionar 20,0 mL de água. Deixar em banho de ultrassom a 4 °C mantidos por gelo, por cinco minutos. Deixar a solução em temperatura ambiente por 30 minutos. Centrifugar por 30 minutos. Transferir 10 mL do sobrenadante para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com mistura de álcool metílico e ácido fórmico anidro a 1% (60:40) e homogeneizar, obtendo a *Solução estoque*. Agitar e centrifugar durante cinco minutos.

Solução amostra: Transferir 0,5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com a *Solução estoque* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução de padrão interno* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de *p*-hidroxibenzoato de butila na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução amostra* em relação à *Solução de padrão interno*. Calcular o teor de alicina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TA} = \frac{A_a \times m_r \times \ 22{,}75}{A_r \times m_a}$$

em que,

TA = teor de alicina % (p/p);
A_a = área sob o pico correspondente à alicina na *Solução amostra*;
A_r = área sob o pico correspondente ao *p*-hidroxibenzoato de butila na *Solução amostra*;
m_a = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;
m_r = massa em gramas de *p*-hidroxibenzoato de butila em 100 mL de *Solução de padrão interno*.

1 mg de *p*-hidroxibenzoato de butila corresponde a 8,65 mg de alicina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

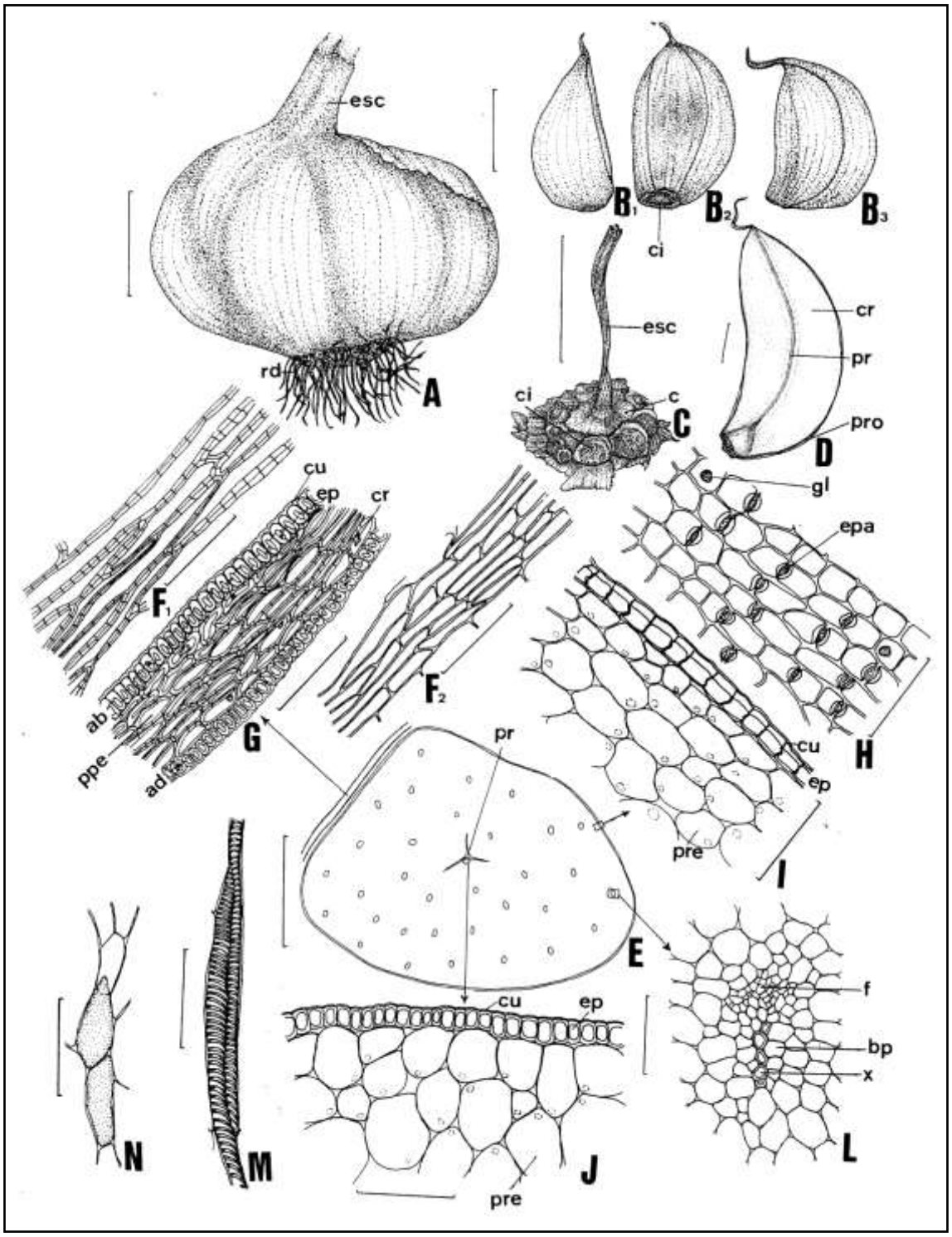


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Allium sativum* L.

As escalas correspondem: em A e C (2 cm), em B (1,5 cm), em D e E (0,5 cm), em F até N (100 µm).

A - aspecto geral do bulbo composto; raízes adventícias (rd); escapo (esc). **B_1, B_2 e B_3** – aspecto dos bulbilhos em vista dorsal, ventral e lateral, respectivamente; cicatriz da inserção do bulbilho (ci). **C** - aspecto da porção caulinar do bulbo, após a retirada dos bulbilhos; caule discoide (c); escapo (esc). **D** - secção longitudinal de um bulbilho; catáfilo de reserva (cr); primórdio foliar (pr); prófilo escamoso (pro). **E** - secção transversal de um bulbilho; primórdio foliar (pr). **F_1 e F_2** - detalhes de porção da epiderme do prófilo escarioso em vista frontal abaxial e adaxial, respectivamente. **G** - detalhe da secção transversal do prófilo escarioso; face abaxial (ab); face adaxial (ad); cristais (cr); cutícula (cu); epiderme esclerificada (ep); parênquima com células de paredes espessadas (ppe). **H** - detalhe da porção externa do catáfilo de reserva em vista frontal; gota lipídica (gl); espessamento de parede (epa). **I** - detalhe da porção externa do catáfilo de reserva em secção transversal; cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima de reserva (pre). **J.** detalhe da porção interna do catáfilo em secção transversal, como assinalado em E; cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima de reserva (pre). **L** - feixe

vascular em secção transversal; bainha parenquimática (bp); floema (f); xilema (x). **M** - elementos de vaso com espessamento de parede helicoidal e anelado em vista longitudinal. **N** - detalhe de células do parênquima de reserva.

ALOE, exsudato seco
Aloe exudatum siccum

A droga vegetal consiste do suco espesso obtido das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f., *Aloe ferox* Mill., *Aloe africana* Mill. e *Aloe spicata* L. f. ou de seus híbridos interespecíficos, ou ainda, da mistura delas, dessecado por meio de calor, contendo, no mínimo, 18% de derivados hidroxiantracênicos, expressos em barbaloína ($C_{21}H_{22}O_9$, 418,39).

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor acre, desagradável e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Massas irregulares, de coloração castanho-escura, com reflexos esverdeados, de fratura lisa e vítrea. Seus fragmentos são translúcidos nos bordos, muito friáveis, originando um pó marrom-amarelado.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

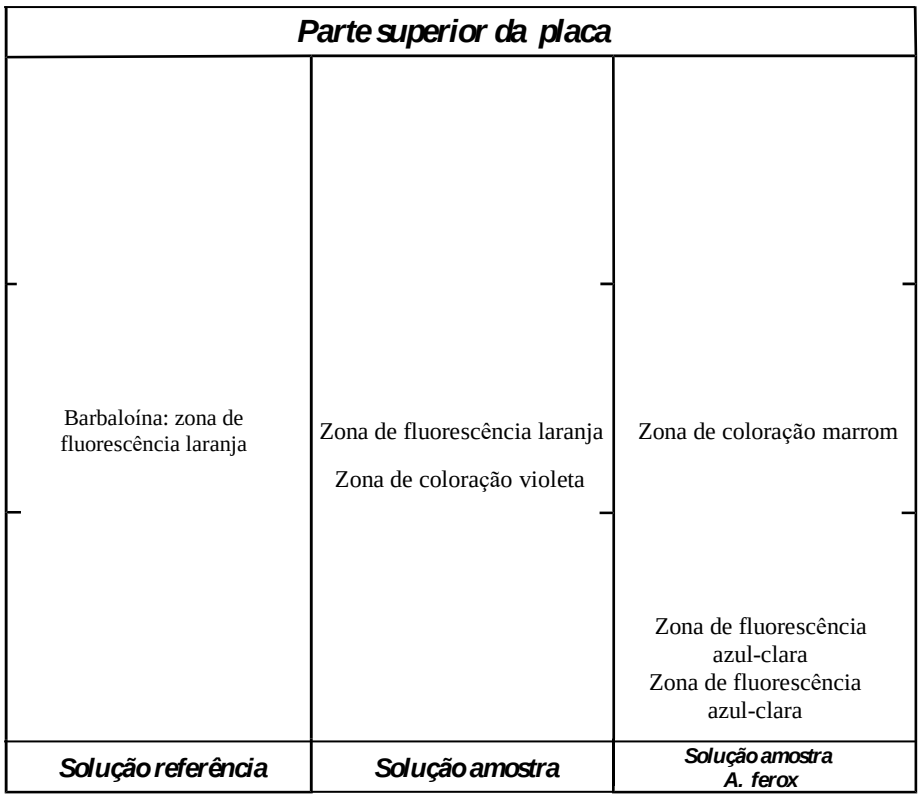
Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e água (100:17:13).

Solução amostra: a 0,25 g do pulverizado, adicionar 20 mL de álcool metílico e aquecer até ebulição. Agitar por alguns minutos, decantar a solução e manter a cerca de 4 °C. Essa solução pode ser utilizada até 24 horas depois.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de barbaloína em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de potássio a 10% (p/v) em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. A seguir, aquecer a placa em estufa a 110 ºC 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.



TESTES

Solubilidade. Parcialmente solúvel em água fervente, solúvel em álcool etílico quente e praticamente insolúvel em éter etílico.

Substâncias insolúveis em álcool. Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal e transferir para um balão contendo 50 mL de álcool etílico. Aquecer a mistura e mantê-la, moderadamente, em ebulição durante 15 minutos, repondo o álcool etílico evaporado. Deixar esfriar e agitar a mistura, de vez em quando, durante uma hora. Filtrar em papel de filtro pequeno, dessecado e tarado, e lavar o resíduo com álcool etílico até que os líquidos de lavagem passem incolores. Dessecar esse resíduo a 105 °C, até peso constante. O peso encontrado deve ser inferior a 10,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 4,0%.

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

DOSEAMENTO

Derivados hidroxiantracênicos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: transferir 0,4 g da amostra pulverizada para um erlenmeyer de 250 mL. Umedecer com 2 mL de álcool metílico, adicionar 5 mL de água previamente aquecida a cerca de 60 °C e homogeneizar. Adicionar 75 mL de água aquecida à cerca de 60 °C e agitar durante 30 minutos. Esfriar e filtrar para balão volumétrico. Lavar o erlenmeyer e o filtro com 20 mL de água. Verter a água de lavagem para balão volumétrico, completar com água até 1000 mL e homogeneizar. Introduzir 10 mL dessa solução num balão de fundo redondo de 100 mL, contendo 1 mL de solução

de cloreto férrico a 60% (p/v) e 6 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria sob refluxo durante quatro horas, mantendo o nível de água acima do líquido do balão e ao abrigo da luz intensa. Deixar esfriar e transferir a solução para funil de separação. Lavar sucessivamente o balão com 4 mL de água, 4 mL de hidróxido de sódio *M* e 4 mL de água. Reunir os líquidos de lavagem ao conteúdo do funil de separação. Agitar três vezes com 20 mL de éter etílico de cada vez. Reunir as camadas etéreas e lavar duas vezes com 10 mL de água de cada vez, rejeitando as águas de lavagem. Completar a camada orgânica até 100 mL com éter etílico e homogeneizar.

Solução amostra: evaporar 20 mL da *Solução estoque* até resíduo em banho-maria. Suspender o resíduo em 10 mL de acetato de magnésio a 0,5% (p/v) em álcool metílico.

Solução branco: álcool metílico.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 512 nm, imediatamente após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos, expressos em barbaloína, segundo a expressão:

$$\text{TDHC} = \frac{\text{A} \times 19{,}6}{m \times 255}$$

em que,

TDHC = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em barbaloína % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra;*
255 = coeficiente de absorção específica da barbaloína;
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.

ALTEIA, raiz
Althaeae radix

A droga vegetal consiste de fragmentos de raízes secas de *Althaea officinalis* L.

CARACTERÍSTICAS

Consistência mucilaginosa após hidratação.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A raiz não mondada é cilíndrica, ligeiramente retorcida e sulcada longitudinalmente, com até 20 cm de comprimento e até 2 cm de espessura. A superfície externa é pardo-grisácea e apresenta numerosas cicatrizes das raízes laterais. A fratura é fibrosa na porção externa e irregular e granulosa internamente. Na secção transversal são visíveis camadas concêntricas do córtex de coloração parda e sua estrutura estratificada, separado por uma faixa cambial bem marcada, sinuosa e de coloração amarelada, seguida pelo cilindro central de coloração esbranquiçada, mostrando xilema com estrutura radial, especialmente após hidratação em água e com auxílio de lente. A raiz mondada é quase cilíndrica e a face externa tem cicatrizes escuras originadas pelas raízes laterais e apresenta coloração amarelo-esbranquiçada. Frequentemente a droga se apresenta fragmentada, sendo bem visíveis porções de fibras dispostas longitudinalmente ou desprendidas dos restos do córtex. As três regiões descritas podem ser visíveis nos fragmentos.

B. Descrição microscópica

A raiz não mondada, em vista frontal, apresenta súber com células poliédricas de paredes retilíneas. Em secção transversal, são bem visíveis as três regiões mencionadas na descrição macroscópica. O córtex externamente apresenta súber pouco desenvolvido, constituído por células tabulares e irregulares, de paredes delgadas e retilíneas, dispostas em fileiras e internamente parênquima cortical com células geralmente poliédricas e volumosas, de paredes delgadas e retilíneas. Neste parênquima ocorrem agrupamentos irregulares de fibras do floema, dispostos aleatoriamente, com células de paredes pouco espessadas e cujas células condutoras são raramente visíveis. Os raios parenquimáticos distribuem-se desde o córtex interno até o cilindro central e são constituídos geralmente por poucas fileiras de células. O câmbio é formado por células pequenas, dispostas em fileiras, a maioria achatada longitudinalmente. O cilindro central é muito desenvolvido, formado por parênquima xilemático com células variadas em forma e volume, com paredes retilíneas e delgadas. Os elementos condutores formam agrupamentos irregulares alinhados longitudinalmente e muitas vezes associados a pequenas células parenquimáticas; mais internamente mostram disposição anelar. Agrupamentos de fibras ou fibras isoladas são encontrados em todo o cilindro central, ocorrendo também junto ao xilema primário, quando presente nas raízes com medula sólida, isto é, preenchida por um parênquima composto por células de grande volume. Grãos de amido simples, de variadas formas, frequentemente arredondados, ovoides ou reniformes, com hilo geralmente central e ramificado, raramente excêntrico, ou raramente grãos compostos, muitas vezes mostrando lamelação, ocorrem em grande quantidade em todos os tecidos, exceto no parênquima medular. Cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusa, com diferentes tamanhos são muito comuns no córtex e no cilindro central. Células contendo mucilagem, ovaladas ou arredondadas, em regra maiores do que as demais parenquimáticas, com protoplasto denso e escuro, também ocorrem no córtex e no cilindro central. Raízes mondadas podem não apresentar súber e parênquima cortical externo. Com a adição de azul de toluidina os elementos

de vaso adquirem coloração azul intenso, as fibras coram de azul-claro e as células contendo mucilagem, de violeta. Devido à grande quantidade de grãos de amido e de células contendo mucilagem há dificuldade na confecção de lâminas histológicas utilizando-se material hidratado, sendo necessário testar o tempo de hidratação.

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. São características: coloração branca a branco-amarelada, quando proveniente de raízes mondadas ou pardo-acinzentada quando proveniente de raízes não mondadas; fragmentos de súber em secção transversal: com células retangulares e achatadas longitudinalmente, idem com células quadrangulares, idem contendo idioblastos cristalíferos, idem com células retangulares e achatadas longitudinalmente, contendo idioblastos cristalíferos e grãos de amido, em vista frontal, contendo grãos de amido, em secção transversal, com células retangulares e achatadas longitudinalmente, repletas de grãos de amido; fragmentos de parênquima em vista frontal: contendo células com mucilagem e muitos grãos de amido, idem mostrando idioblastos cristalíferos e células repletas de grãos de amido, fragmentos de parênquima em secção transversal, contendo grãos de amido, idem contendo idioblastos cristalíferos, idem com células contendo mucilagem e grande quantidade de grãos de amido; fragmentos de raio parenquimático, em secção longitudinal, mostrando células parenquimáticas e fibras; células parenquimáticas isoladas, repletas de grãos de amido e/ou contendo cristais; fragmentos de raio parenquimático, em secção transversal, com células contendo grãos de amido; fragmentos de xilema, em secção longitudinal, mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado associado a fibras e a parênquima, idem mostrando elementos de vaso com espessamento reticulado, fibras e parênquima com grãos de amido, idem mostrando elementos de vaso com espessamento reticulado e com espessamento pontoado, associados a células parenquimáticas repletas de grãos de amido, porções de elemento de vaso com espessamento helicoidal, em secção longitudinal, elementos de vaso em secção transversal, associados a células parenquimáticas repletas de grãos de amido, porções de elementos de vaso com espessamento reticulado, em secção longitudinal; fragmentos de fibras, em secção longitudinal associados a células parenquimáticas do xilema, fragmentos de feixes de fibras, em secção longitudinal, contendo grãos de amido, fragmentos de feixe de fibras, em secção longitudinal, associados a células do raio parenquimático, fragmentos de agrupamentos de fibras, em secção transversal; fibras ou porções destas, em secção longitudinal, isoladas e/ou agrupadas; grãos de amido, em vista frontal, simples ou compostos, isolados ou agrupados em pequeno número; agrupamentos formando grumos de grãos de amido, em vista frontal; mucilagem desprendida das células; células isoladas contendo mucilagem; cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metil-etil-cetona, ácido fórmico e água (50:30:10:10).

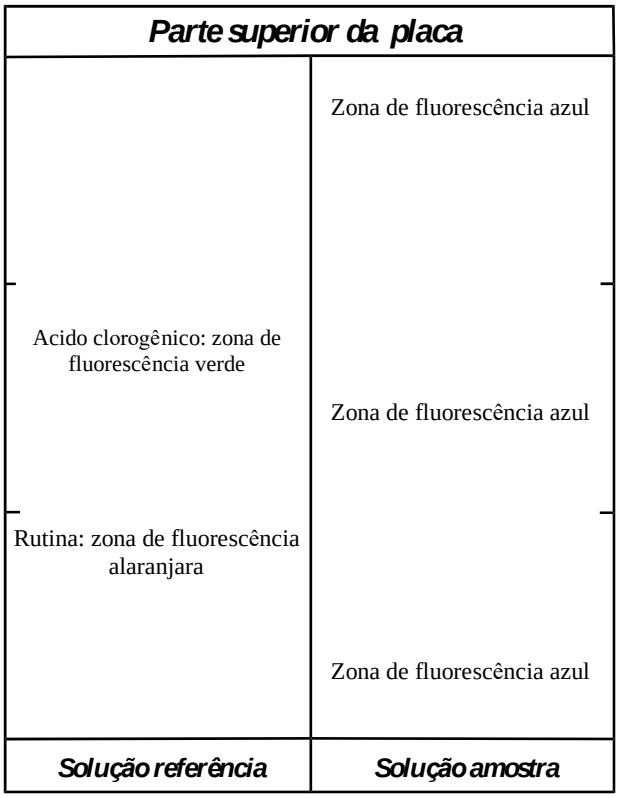
Solução amostra: pesar 1 g da amostra, adicionar 10 mL de álcool metílico, aquecer em banho-maria durante 15 minutos. Filtrar.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de rutina e 1 mg de ácido clorogênico em 10 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

ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR (Reagente Natural A) e 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.



TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 2,0% de elementos de cor castanho. No máximo, 2,0% de elementos do súber (raiz mondada).

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 12,0%. Determinar em 1 g da amostra pulverizada (710 µm) **(5.2.11)**, em estufa de 100 °C a 105 °C, durante duas horas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo, 6,0% na raiz mondada. No máximo, 8,0% na raiz não mondada.

Índice de intumescência (5.4.1.11). No mínimo 10, determinado na amostra pulverizada (710 µm) **(5.2.11)**.

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, protegido da luz e do calor.

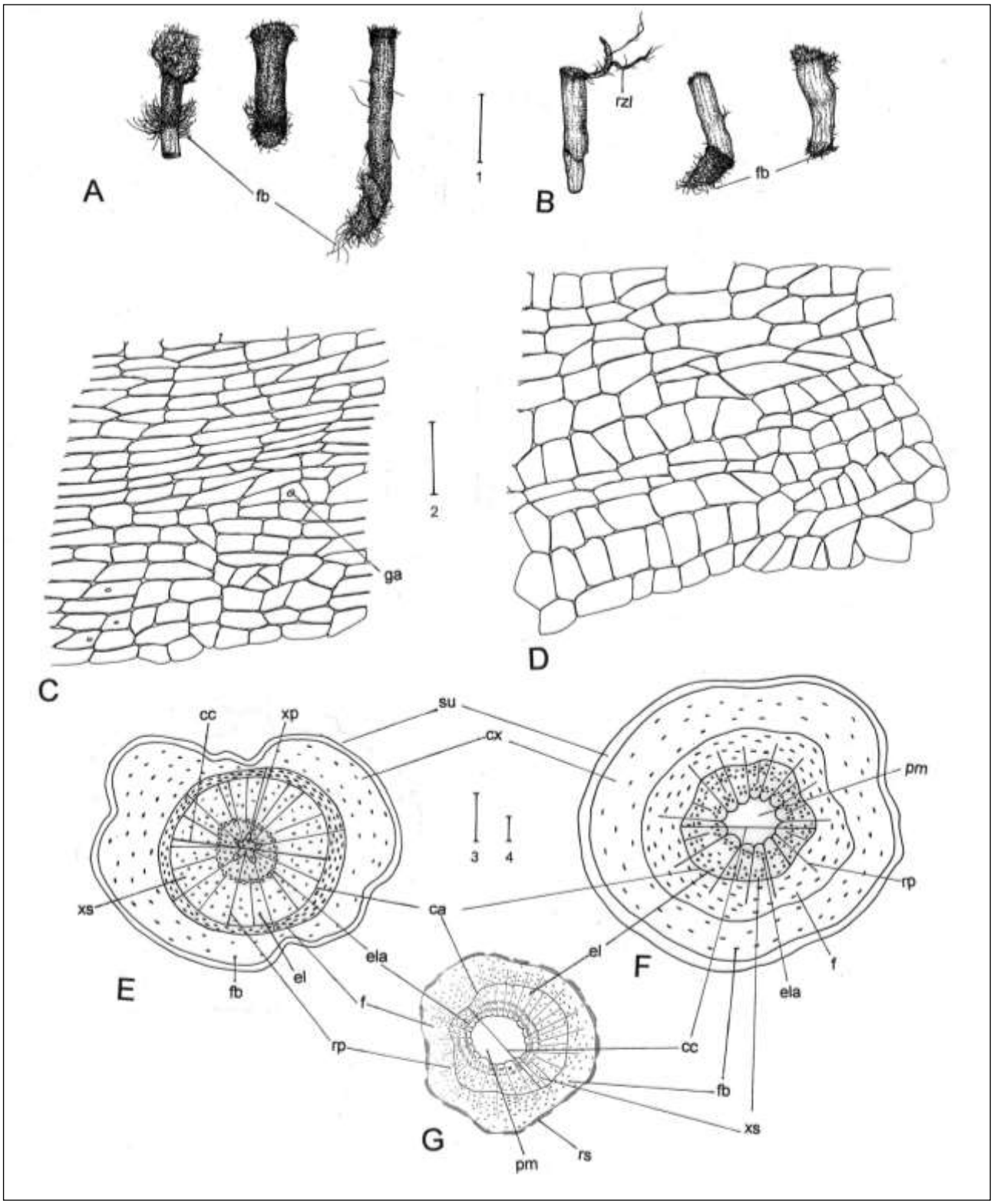


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Althaea officinalis* L.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 2 cm (régua 1); em **C** e **D** a 100 µm (régua 2); em **E** e **F** a 1 mm (régua 3); em **G** a 1 mm (régua 4).

A - aspectos gerais de raízes não mondadas; fibra (fb). **B** - aspectos gerais de raízes mondadas; fibra (fb); raiz lateral (rzl). **C** - vista frontal do súber externo de uma raiz não mondada; grão de amido (ga). **D** - vista frontal do súber interno de uma raiz mondada. **E** - representação esquemática de uma raiz não mondada, em secção transversal; câmbio (ca); cilindro central (cc); córtex (cx); elemento traqueal (el); elementos traqueais com disposição anelar (ela); floema (f); fibra (fb); raio parenquimático (rp); súber (su); xilema primário (xp); xilema secundário (xs). **F** - representação esquemática de uma raiz não mondada, em secção transversal; câmbio (ca); cilindro central (cc); córtex (cx); elemento traqueal (el); elementos traqueais com disposição anelar (ela); floema (f); fibra (fb); parênquima medular (pm); raio parenquimático (rp); súber (su); xilema secundário (xs). **G** - representação esquemática de uma raiz mondada, em secção transversal; câmbio (ca); cilindro central (cc); córtex (cx); elemento traqueal (el); elementos traqueais com disposição anelar (ela); floema (f); fibra (fb); parênquima medular (pm); raio parenquimático (rp); restos de súber (rs); xilema secundário (xs).

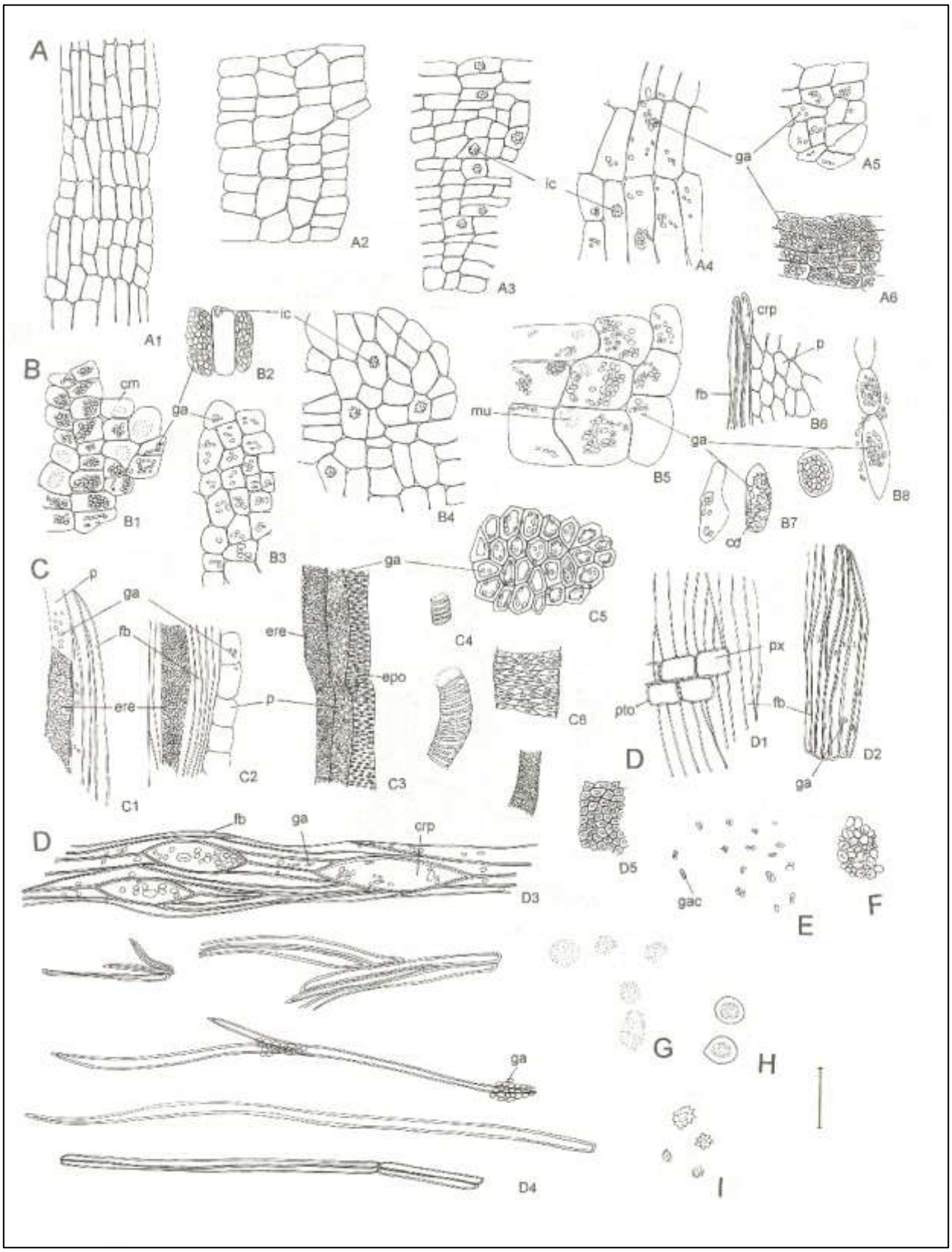


Figura 2 – Aspectos da microscopia do pó em *Althaea officinalis* L.

A escala corresponde a 100 µm.

A - fragmentos de súber; A1 - fragmento de súber, em secção transversal, mostrando células retangulares e achatadas longitudinalmente; A2 - fragmento de súber, em secção transversal, mostrando células quadrangulares; A3 - fragmento de súber, em secção transversal, contendo idioblastos cristalíferos (ic); A4 - fragmento de súber, em secção transversal, com células retangulares e achatadas longitudinalmente, contendo idioblastos cristalíferos (ic) e grãos de amido (ga); A5 – fragmento de súber, em vista frontal, contendo grãos de amido (ga); A6 - fragmento de súber, em secção transversal, com células retangulares e achatadas longitudinalmente, repletas de grãos de amido (ga). **B -** fragmentos de parênquima;

B1 - fragmento de parênquima, em vista frontal, contendo células com mucilagem (mu) e muitos grãos de amido (ga); B2 - fragmento de parênquima, em vista frontal, mostrando idioblastos cristalíferos (ic) e células repletas de grãos de amido (ga); B3 – fragmento de parênquima, em secção transversal, contendo grãos de amido (ga); B4 - fragmento de parênquima, em secção transversal, contendo idioblastos cristalíferos (ic); B5 - fragmento de parênquima, em secção transversal, com células de mucilagem (mu) e com muitos grãos de amido (ga); B6 - fragmento de raio parenquimático (crp), em secção longitudinal, mostrando células parenquimáticas (p) e fibras (fb); B7- células parenquimáticas isoladas, contendo grãos de amido (ga) e cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (cd) ou repletas de grãos de amido; B8 - fragmento de raio parenquimático, em secção transversal, com células contendo grãos de amido (ga). **C** - fragmentos de xilema; C1 - fragmento de xilema, em secção longitudinal, mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado (ere) associado a fibras (fb) e a parênquima (p) com grãos de amido (ga); C2 - fragmento de xilema, em secção longitudinal, mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado (ere), fibras (fb) e parênquima (p) em secção transversal e com grãos de amido (ga); C3 - fragmento de xilema, em secção longitudinal, mostrando elementos de vaso com espessamento reticulado (ere) e com espessamento pontoado (epo), associados a células parenquimáticas (p) repletas de grãos de amido (ga); C4 – porções de elemento de vaso com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; C5 - elementos de vaso em secção transversal, com grãos de amido (ga); C6 - porções de elementos de vaso com espessamento reticulado, em secção longitudinal. **D** - fragmentos de fibras; D1 - fragmento de fibras (fb), em secção longitudinal associados a células parenquimáticas do xilema (px) pontoadas (pto); D2 - fragmento de feixes de fibras, em secção longitudinal, contendo grãos de amido (ga); D3 -fragmentos de feixe de fibras (fb), em secção longitudinal, associados a células do raio parenquimático (crp) contendo grãos de amido (ga); D4 – fibras ou porções destas, isoladas ou agrupadas, em secção longitudinal; grão de amido (ga); D5 - fragmento de agrupamento de fibras, em secção transversal. **E** - grãos de amido, em vista frontal, simples ou compostos (gac), isolados ou agrupados em pequeno número. **F** - agrupamentos formando grumos de grãos de amido, em vista frontal. **G** - mucilagem desprendida das células. **H** - células isoladas contendo mucilagem. **I** - cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, isolados.

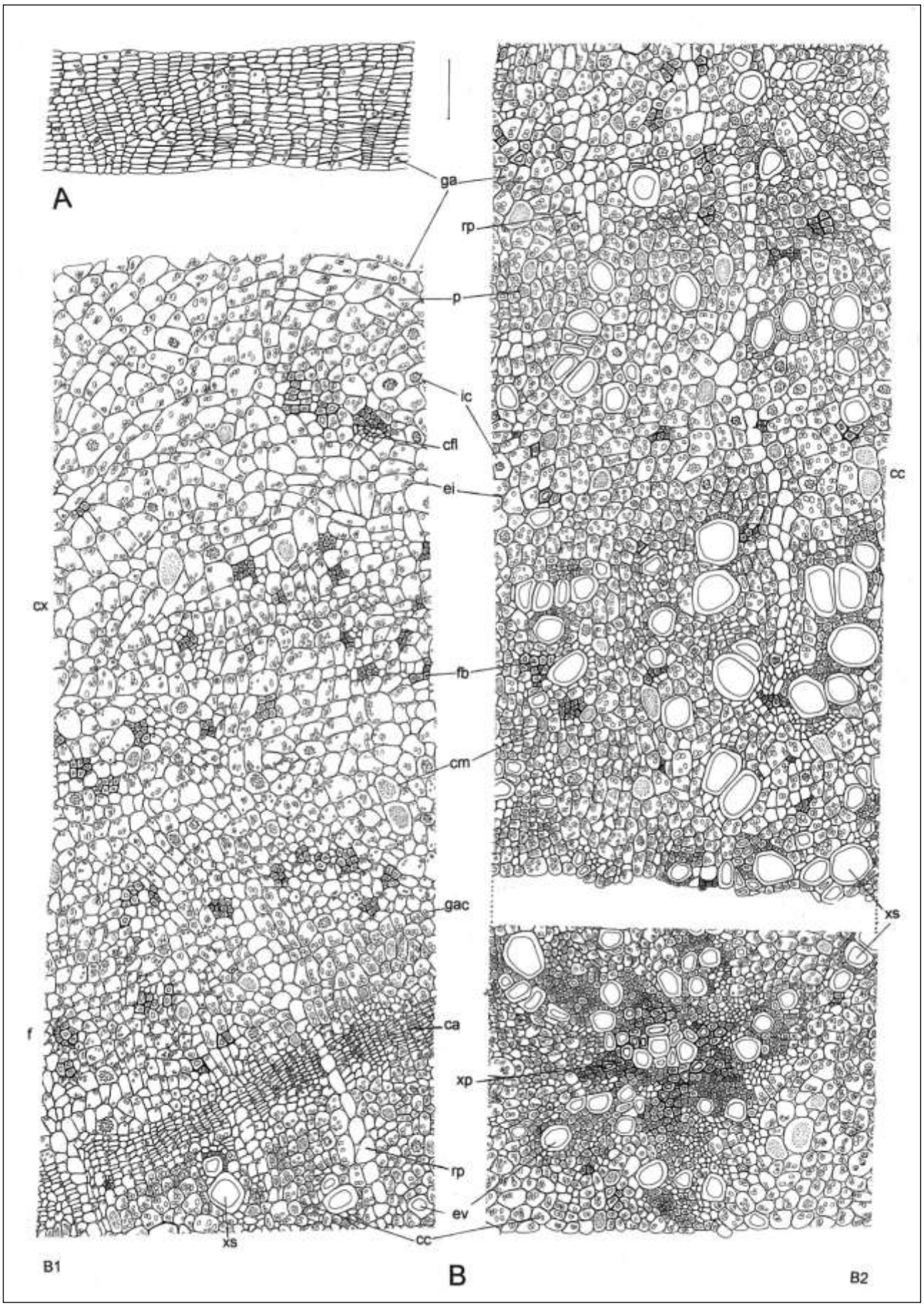


Figura 3 – **Aspectos microscópicos em *Althaea officinalis* L.**

A escala corresponde a 100 µm.**A** - detalhe parcial do súber, em secção transversal, de uma raiz não mondada; grão de amido (ga). **B** - detalhe parcial de uma raiz mondada, em secção transversal; B1 detalhe parcial do córtex, câmbio e porção externa do cilindro central; câmbio (ca); cilindro central (cc); células condutoras do floema (cfl); célula contendo mucilagem (cm); córtex (cx); espaço intercelular (ei); elemento de vaso (ev); floema (f); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); grão de amido (ga); grão de amido composto (gac); raio parenquimático (rp); parênquima (p); xilema secundário (xs); B2 continuidade do detalhe parcial de B1, mostrando porção interna do cilindro central; cilindro central (cc); célula contendo mucilagem (cm); espaço intercelular (ei); elemento de vaso (ev); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); grão de amido (ga); raio parenquimático (rp); parênquima (p); xilema primário (xp); xilema secundário (xs).

AMEIXA, fruto
Prunum fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Prunus domestica* L., contendo, no mínimo, 0,70% de ácido clorogênico ($C_{16}H_{18}O_9$, 354,31), calculado em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fruto do tipo drupa, oblongo a elipsóide, com 3 a 4 cm de comprimento, de coloração pardo-arroxeada, muito enrugado pelo dessecamento. A casca ou exocarpo é brilhante e irregularmente rugosa, podendo apresentar porções lisas, e a polpa ou mesocarpo é adocicada e mole.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}, com espessura de 250 µm.

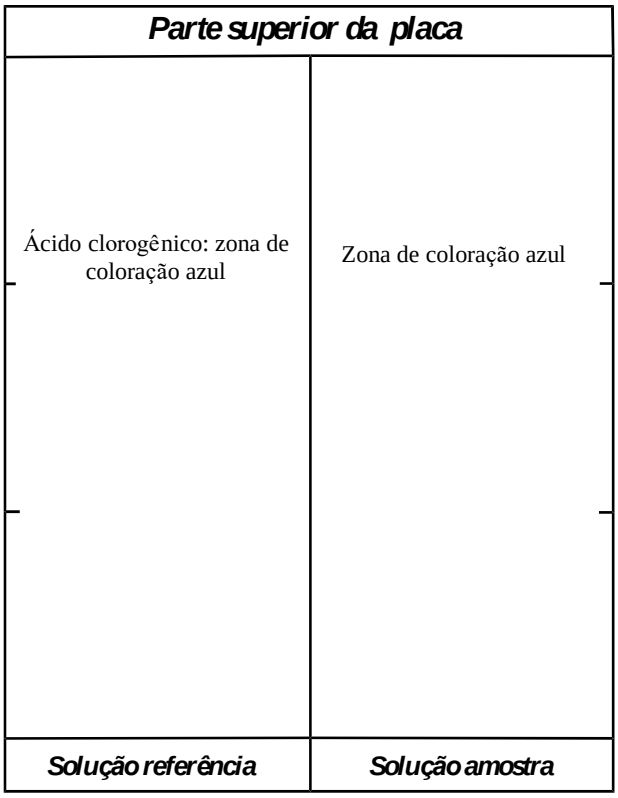
Fase móvel: acetato de etila, água, ácido acético e ácido fórmico (100:26:11:11).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 20 mL de álcool etílico a 70% (v/v) e agitar mecanicamente durante 15 minutos. Filtrar e secar o extrato em rotaevaporador 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 ácido clorogênico em álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência.* Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer a placa entre 100 °C e 105°C durante 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.



TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico*. No máximo 54,0%.

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 0,6%.

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

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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A)* (%)**	***Eluente (B)* (%)**	**Eluição**
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: pesar, com exatidão, cerca de 1,00 g da droga vegetal e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 25 mL de álcool metílico e aquecer sob refluxo por 30 minutos. Após resfriamento, filtrar em algodão para balão de fundo redondo de 100 mL. Extrair mais duas vezes o resíduo da droga no balão de fundo redondo e no algodão com 20 mL de álcool metílico e aquecer, sob refluxo, por mais 15 minutos. Filtrar, reunir todos os filtrados no balão de fundo redondo e secar até resíduo em rotaevaporador, com a temperatura máxima de 60 °C. Dissolver o resíduo em 3 mL de álcool metílico e levar ao ultrassom por cinco minutos. Transferir a solução para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: pesar 12,0 mg de ácido clorogênico. Transferir para balão volumétrico de 100,0 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução referência: transferir 1,2 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante 0,45 µm diretamente para vial.

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 clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

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 da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;
m_a = massa em gramas do ácido clorogênico, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ANGICO, casca
Anadenantherae cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas do caule de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 6% de taninos totais e, no mínimo, 0,19% de catequina ($C_{15}H_{14}O_6$, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares secas apresentam-se em fragmentos levemente curvos e muito rígidos, resinosos, com 6 a 8 cm de comprimento, 0,5 a 2,5 cm de largura e 0,5 a 1,5 cm de espessura. A superfície externa é rugosa, de coloração pardacenta e é geralmente recoberta de placas esbranquiçadas a acinzentadas, com esparsas manchas pretas. A superfície interna é de coloração pardo-avermelhada, apresentando estrias longitudinais devido à presença de grossas fibras estreitas e opostas entre si.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal da casca há periderme bem desenvolvida, com 15 a 30 camadas de células tabulares, enfileiradas radialmente. No córtex, em secção transversal, há de 10 a 22 camadas ou mais de células de parênquima cortical achatadas radialmente, alternadas a faixas de fibras esclerenquimáticas; após as faixas de parênquima ocorrem faixas de feloderme, caracterizadas por células achatadas dispostas radialmente em fileiras sobrepostas. Raios e cordões parenquimáticos são evidentes. Algumas células parenquimáticas do parênquima cortical contêm cristais prismáticos, além de grãos de amido. Na secção longitudinal há camadas de fibras alternadas aos 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 castanho-clara; porções de células do parênquima; fragmentos de fibras esclerenquimáticas libriformes; células parenquimáticas com cristais prismáticos e com células pétreas.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}, com espessura de 250 µm.

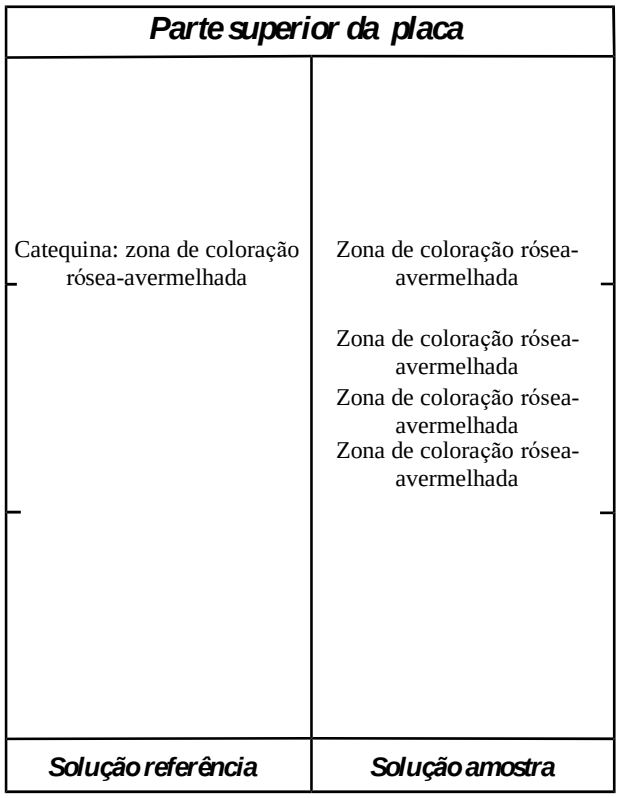
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar 1 g da droga pulverizada e colocar em balão de fundo redondo adicionando 10 mL de álcool metílico. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão.

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.



TESTES

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

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

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6,0%.

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.

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 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água e aquecer em

banho-maria durante 30 minutos, à temperatura entre 85 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro o líquido sobrenadante. 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 e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). 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. 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 e 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 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.

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 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 23 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

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

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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: pesar 0,750 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 durante 30 minutos, a temperatura de 85 °C a 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 4,05 µg/mL.

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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 250 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 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.

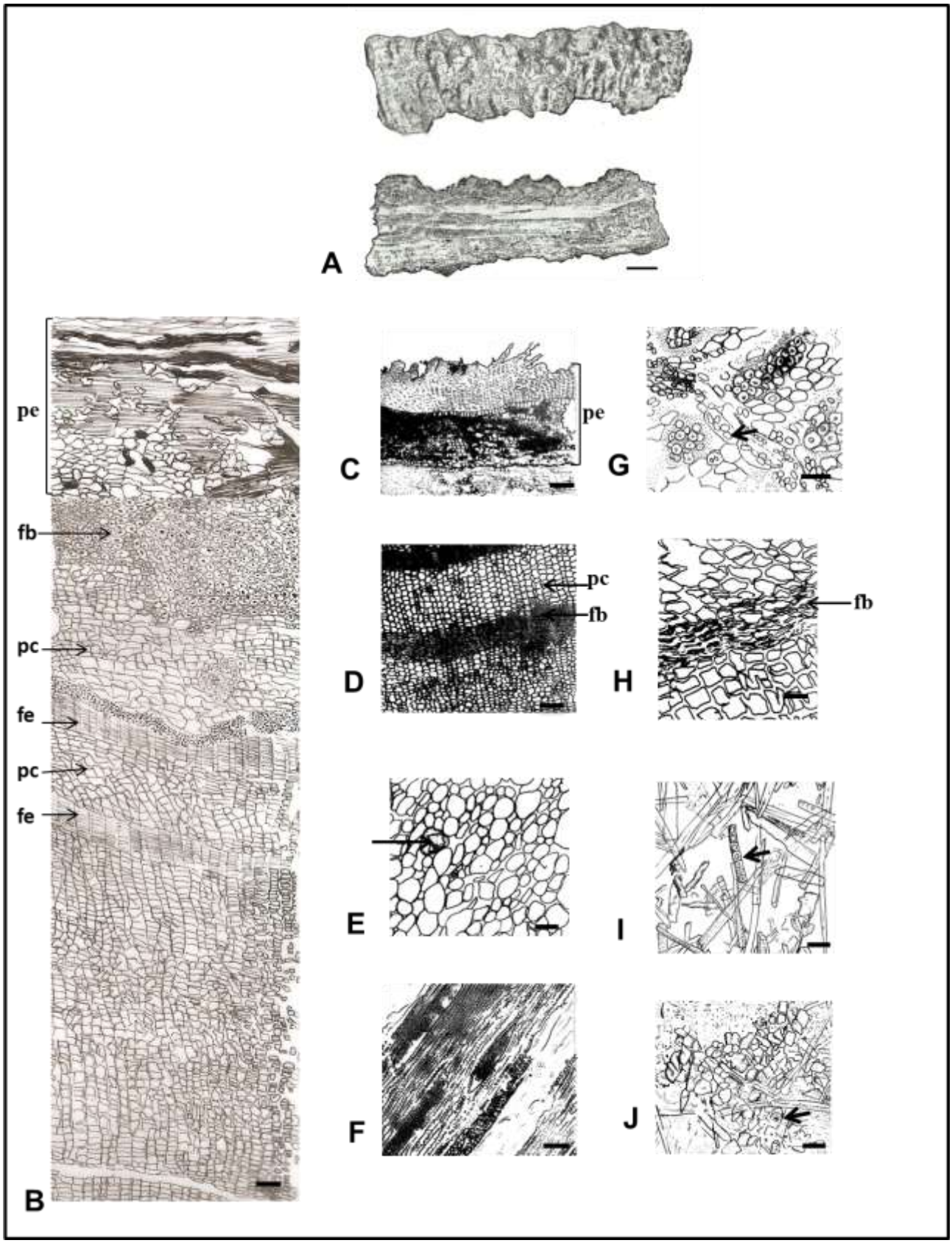


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan

As escalas correspondem em **A** a 2 cm; **B, C, D, E, F** e **H** a 100 µm; **G, 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 do caule, em secção transversal: feloderme (fe), fibras (fb), parênquima cortical (pc), periderme (pe). **C** - detalhe da secção transversal da casca: periderme (pe). **D** - detalhe da secção transversal da casca: parênquima cortical (pc) e faixas de fibras (fb). **E** - detalhe da secção transversal da casca: cristal prismático nas células de parênquima cortical (seta). **F** - detalhe

da secção longitudinal da casca mostrando um cordão parenquimático e um raio. **G** - detalhe da secção transversal na região dos raios parenquimáticos da casca: grãos de amido nas células de parênquima cortical (seta). **H** - detalhe da secção longitudinal da casca: fibras (fb). **I e J** - detalhes observados no pó. **I** - fibras libriformes e células parenquimáticas com cristais prismáticos (seta). **J** - células pétreas (seta).

ANIS-DOCE, fruto
Anisi fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Pimpinella anisum* L., contendo, no mínimo, 2% de óleo volátil, com, no mínimo, 87% de *trans*-anetol.

NOMES POPULARES

Erva-doce.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor agradável e anisado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é um diaquênio piriforme, constituído de dois mericarpos comprimidos lateralmente, alargado na base e estreitado no ápice, de 0,3 a 0,7 cm de comprimento e 0,2 a 0,3 cm de largura; de coloração castanho-amarelada ou castanho-esverdeada, sendo o ápice coroado por um estilopódio espesso, com dois estiletes curtos, divergentes e reflexos, e a porção basal provida de um pequeno fragmento do pedicelo, delgado, rígido e um tanto arqueado, que se prolonga entre os mericarpos (aquênios) de cada fruto, pelo carpóforo (filamento central), filiforme e bifendido. Os mericarpos (aquênios), unidos pelo ápice na extremidade do carpóforo, apresentam uma face comissural plana e uma face dorsal convexa, essa última recoberta de tricomas simples e curtos, visíveis com lente. Cada mericarpo é percorrido longitudinalmente por cinco arestas primárias filiformes, retilíneas e lisas, três dorsais e duas comissurais pouco salientes e de tom mais claro. Em secção transversal, os dois mericarpos mostram-se quase sempre unidos pelas suas faces comissurais, deixando visível uma linha contínua de canais secretores na porção dorsal, além de dois canais secretores maiores na face comissural ou ventral. Em cada aresta dorsal ocorrem feixes vasculares. O endosperma é oleoso e levemente ondulado na face comissural.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, cada mericarpo mostra um epicarpo de uma camada de células, onde se encontram numerosos tricomas tectores curtos, geralmente unicelulares, cônicos, com paredes espessas e cutícula verrucosa. Em vista frontal, observam-se esparsos estômatos e uma cutícula fortemente estriada. O mesocarpo é formado por algumas camadas de parênquima, no qual se distingue, ao longo da face dorsal, uma série quase contínua de canais secretores esquizógenos; na face comissural ocorrem dois canais secretores amplos. Na face comissural são encontrados também esclereídes estreitos, alongados longitudinalmente e com numerosas pontoações. Cada aresta contém um estreito feixe vascular circundado por fibras. O endocarpo é composto de uma camada de células, alongadas tangencialmente e de paredes finas, aderida à testa; esta é formada por uma camada de células de paredes internas mais espessas, amarelas ou amarelo-esverdeadas. O endosperma apresenta células poligonais de paredes espessas, contendo gotículas de óleo, grãos de aleurona e microcristais de oxalato de cálcio do tipo drusa. O carpóforo e pedicelo são caracterizados pela presença de vasos e fibras estreitas.

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-esverdeada; fragmentos irregulares do pericarpo, que mostram porções de canais secretores; fragmentos castanhos contendo canais secretores; tricomas inteiros ou fragmentados, unicelulares, de paredes espessas às vezes curvados, com pontas atenuadas e cutícula verrucosa; fragmentos do epicarpo com cutícula estriada e escassos estômatos; fragmentos de tecido vascular com elementos de vaso espiralados ou anelares; células da testa de paredes finas; fragmentos de endosperma contendo grãos de aleurona e cristais de oxalato de cálcio; esclereídes quadrangulares, retangulares ou alongados de paredes espessadas, pontoadas; cordões de fibras do carpóforo e do pedicelo. O pó não contém grãos de amido.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

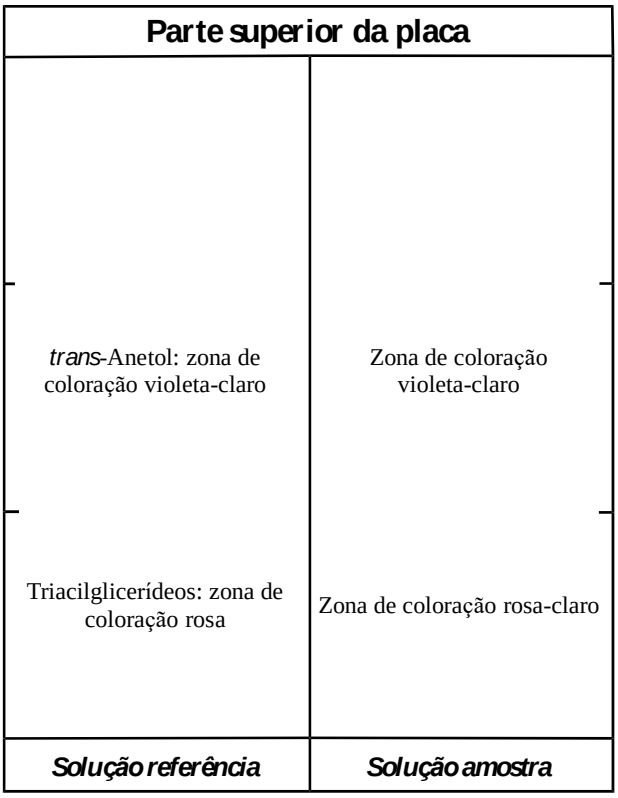
Fase móvel: tolueno.

Solução amostra: utilizar 0,1 g de frutos secos pulverizados (1 400 µm), adicionar 2 mL de cloreto de metileno. Agitar durante 15 minutos. Filtrar. Concentrar o filtrado à secura, em banho-maria, a temperatura inferior a 60 °C. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 3 µL de *trans*-anetol e 40 µL de óleo de oliva em 1 mL de tolueno.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 2 µL e 3 µL da *Solução amostra* e 1 µL, 2 µL e 3 µL da *Solução referência*, com intervalo de 2 cm entre cada aplicação. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com anisaldeído SR e aquecer entre 100 °C a 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.



TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 7,0%.

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

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.

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 250 mL contendo 100 mL de água como líquido de destilação. Reduzir o fruto de anis a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga em pó. Destilar por quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

***Trans*-anetol**

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, preenchida com polietilenoglicol, com espessura do filme de 0,25 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 5	60
	5 – 80	60 → 210
	80 – 100	210
Injetor		200
Detector		220

Solução amostra: óleo volátil de anis-doce obtido em xileno, conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais* **(5.4.1.6)**, sem diluição. Armazenar em recipiente hermeticamente fechado, sob refrigeração e ao abrigo da luz.

Solução referência: dissolver 60 µL de *trans*-anetol em 1 mL de hexano. Armazenar em recipiente hermeticamente fechado, sob refrigeração 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 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o cromatograma da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma 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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

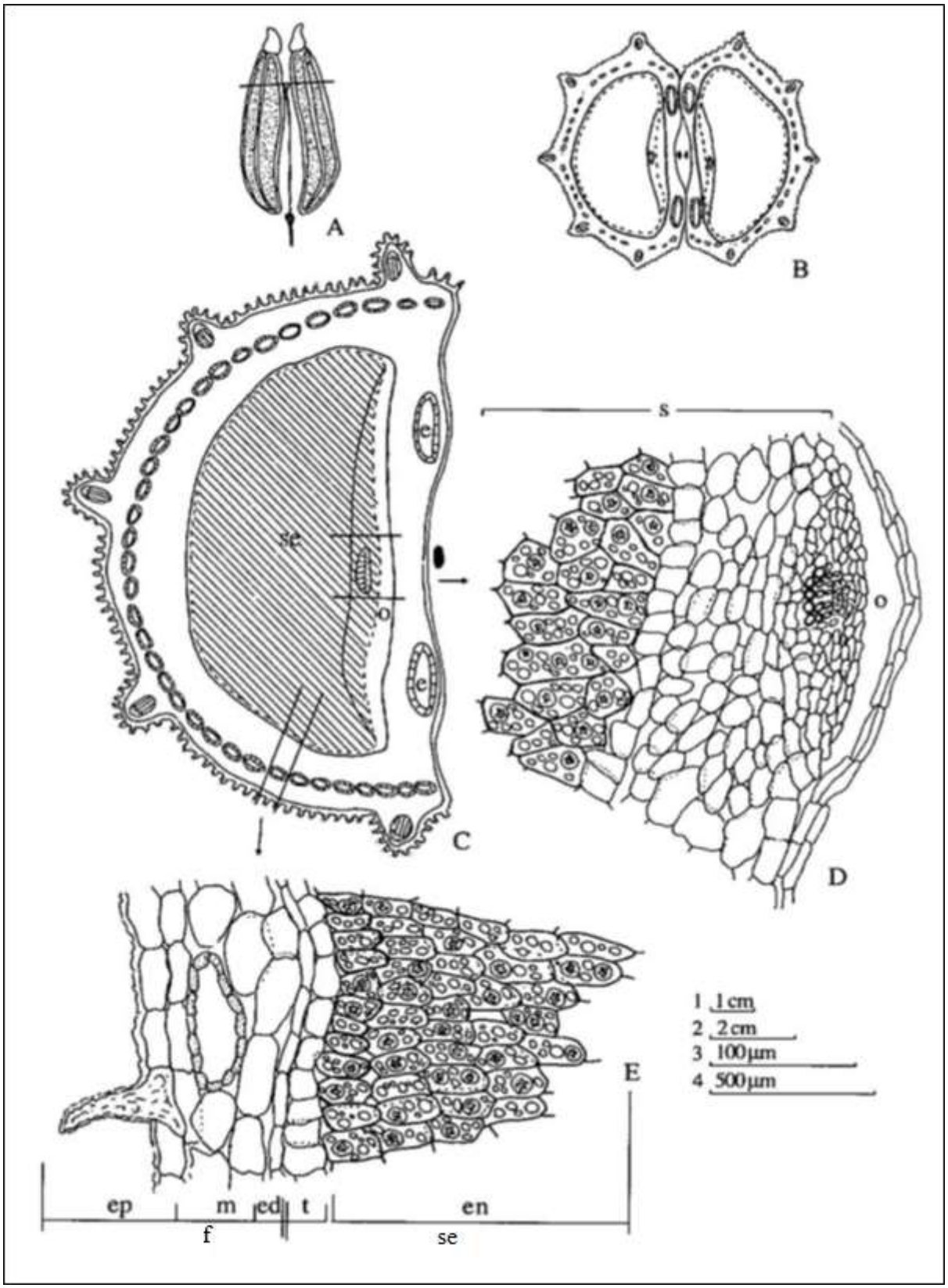


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Pimpinella anisum* L.

As escalas correspondem em **A** a 1 cm (régua 1); em **B** a 2 cm (régua 2); em **C** a 500 µm (régua 4); em **D** e **E** a 100 µm (régua 3).

A – aspecto do diaquênio (fruto). **B** – esquema da secção transversal do diaquênio segundo assinalado em **A**. **C** – esquema da secção transversal em um dos mericarpos: canal esquizógeno (e); oco (o); semente (se). **D** – detalhe da região comissural segundo assinalado em **C;** oco (o); porção da semente (s). **E** – detalhe de porção do fruto e semente segundo assinalado em **C;** secção do pericarpo do fruto (f); endocarpo (ed); epicarpo (ep); mesocarpo (m); secção da porção externa da semente (se); endosperma (en); tegumento (t).

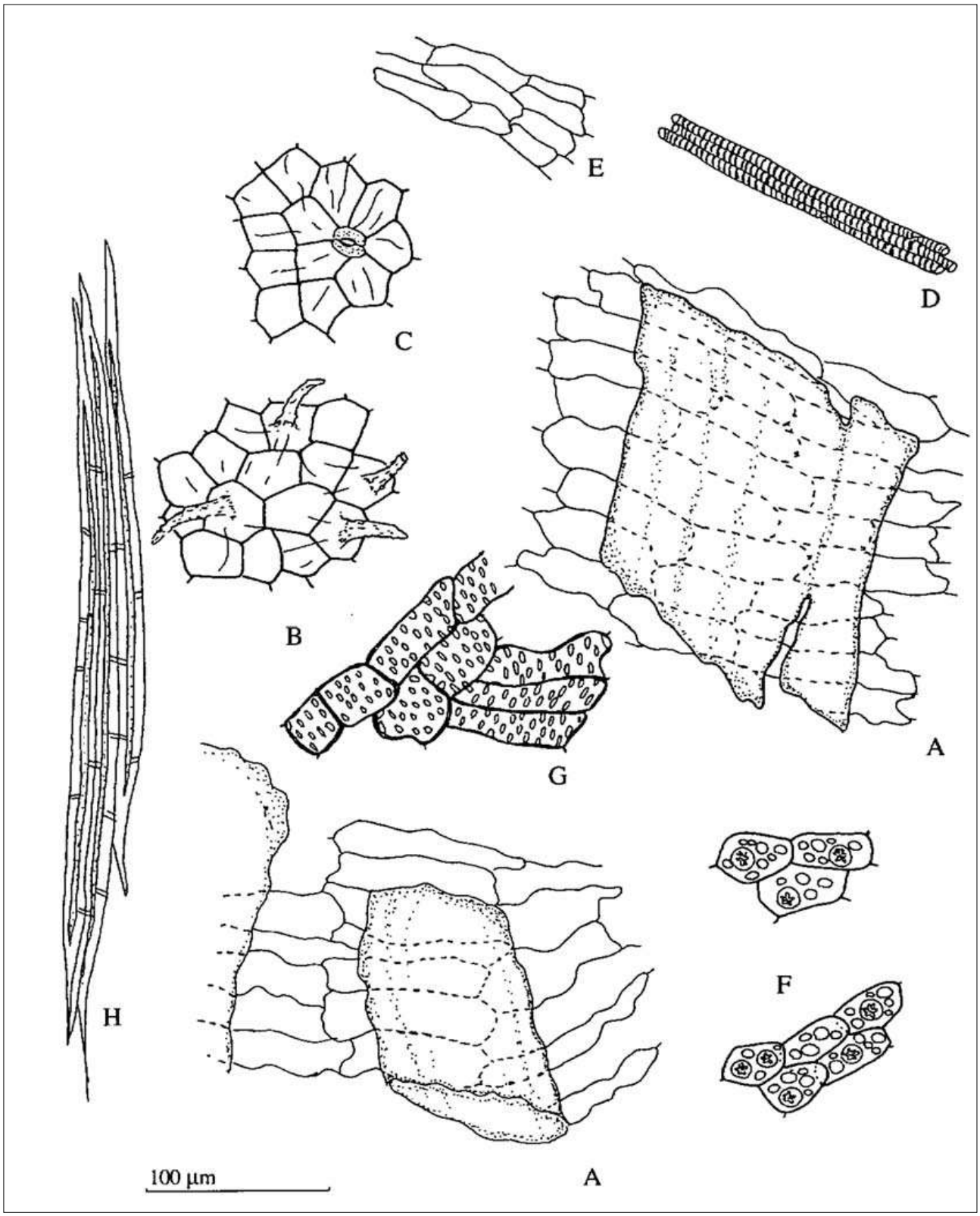


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Pimpinella anisum* L.

A escala corresponde a 100 µm.

A – porções irregulares do mesocarpo com canais secretores ramificados e não ramificados de coloração castanha. **B** – porção do epicarpo com tricomas inteiros e fragmentados e cutícula estriada. **C** – o mesmo, mostrando cutícula estriada e estômato anomocítico. **D** – fragmentos de elementos de vaso com espessamento helicoidal. **E** – células da testa com paredes delgadas. **F** – fragmentos do endosperma com células poligonais contendo gotas de óleo e grãos de aleurona com 1-2 drusas de oxalato de cálcio. **G** – esclereídes da face comissural. **H** – cordões de fibras do carpóforo e do pedicelo.

ANIS-ESTRELADO, fruto
Anisi stellati fructus

A droga vegetal consiste dos frutos secos de *Illicium verum* Hook. f., contendo, no mínimo, 7,0% de óleo volátil, com, no mínimo, 80% de *trans*-anetol.

NOMES POPULARES

Badiana, badiana-da-china.

CARACTERÍSTICAS

O pericarpo da droga possui odor aromático agradável e sabor doce e anisado; a semente é inodora e tem um sabor desagradável.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é múltiplo, composto de sete ou oito folículos, algumas vezes até 11, dispostos horizontalmente em forma de estrela, ao redor de um eixo central denominado columela. Os folículos têm de 1 a 2 cm de comprimento, coloração castanho-acinzentada e são desigualmente desenvolvidos, lenhosos, careniformes, achatados lateralmente, terminando em ápice obtuso e curvo. A face externa, lateral e inferior de cada folículo é espessa e rugosa e o bordo superior, chamado de sutura ventral, é aberto em dois lábios delgados e lisos de cada lado da fenda da deiscência carpelar, deixando ver sua face interna lisa e brilhante, de coloração castanho-amarelada; as faces laterais externas e rugosas apresentam, perto da base, uma parte mais lisa, clara e semielíptica, pela qual os carpelos estão em contato entre si. Cada folículo possui uma única semente oval, castanho-avermelhada ou castanho-amarelada, dura e brilhante, truncada na base, onde se distinguem o hilo e a micrópila próximos um do outro. A semente apresenta tegumento frágil e endosperma oleoso, que circunda um pequeno embrião.

B. Descrição microscópica

O epicarpo, em vista frontal, mostra células poligonais, marrons, irregulares, de paredes pouco espessadas, com estômatos anomocíticos grandes, não muito frequentes, e cutícula com estrias irregulares bem acentuadas. Em secção transversal, o mesocarpo, logo abaixo do epicarpo, apresenta algumas camadas de parênquima de células de paredes castanho-avermelhadas contendo amido, e alguns idioblastos secretores oleíferos esféricos, de paredes finas. Ocorrem pequenos espaços intercelulares em todo o mesocarpo. Mais internamente, o mesocarpo apresenta parênquima de células de paredes castanho-avermelhadas, não lignificadas, mas com numerosos esclereídes e astroesclereides, os quais ocorrem também na columela. Os astroesclereídes da columela e do mesocarpo são muito grandes e usualmente solitários; eles podem ser irregularmente ramificados ou podem ter projeções mais curtas e afiladas. Outros esclereídes do mesocarpo são encontrados em grupos, mas são alongados, com paredes espessadas e pontoadas, sendo denominados de fibroesclereídes. Também no parênquima do mesocarpo ocorrem numerosos idioblastos secretores oleíferos esféricos. As últimas camadas de células do mesocarpo dispõem-se de forma mais compacta, perpendiculares ao restante do mesocarpo e também em relação ao endocarpo. O endocarpo é

formado por uma camada de células alongadas radialmente, sob forma de paliçada, de 60 μm de comprimento, em média. O tegumento da semente é formado por camadas distintas. O tegumento externo está representado por um tecido hialino formado por duas ou trêscamadas de células, seguido por um estrato de osteoesclereídes, com células alongadas radialmente, de paredes espessadas e pontoadas; seguem-se várias camadas de células de paredes lignificadas, espessadas e pontoadas, denominadas macroesclereídes, sendo as camadas interiores de paredes delgadas; o tegumento interno é formado por uma camada de células com cristais de oxalato de cálcio romboédricos ou retangulares. Na zona micropilar ocorrem braquiesclereídes. O endosperma compõe-se de células poligonais com grãos de aleurona com cristaloides e gotas de óleo. O embrião é pequeno.

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; fragmentos formados por células marrons do epicarpo, com cutícula fortemente estriada; fragmentos de células parenquimáticas do mesocarpo, com idioblastos secretores oleíferos esféricos; esclereídes e astroesclereídes volumosos, irregularmente ramificados, oriundos do mesocarpo e da columela; fibroesclereídes alongados, oriundos do mesocarpo, com paredes espessadas e pontoadas; fragmentos formados por células colunares do endocarpo, com paredes levemente espessadas, lignificadas, com pigmentos nas paredes terminais; massas amareladas de células pequenas, de paredes bastante espessadas e pontoadas, provenientes da zona da sutura ventral; esclereídes isolados (osteoesclereídes, macroesclereídes e braquiesclereídes), oriundos do tegumento da semente; fragmentos hialinos do tegumento externo da semente; cristais tabulares ou rombóideos de oxalato de cálcio; porções de endosperma com grãos de aleurona contendo cristaloides.

D. Falsificações e adulterantes

Difere de *Illicium anisatum* L. (syn. *Illicium religiosum* Sieb. & Zucc.) por essa apresentar folículos menores e mais ovalados, sutura ventral mais larga e columela reta, não claviforme e microscopicamente raros astroesclereídes, sendo esses não ramificados; os esclereídes do mesocarpo são arredondados, nunca alongados.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

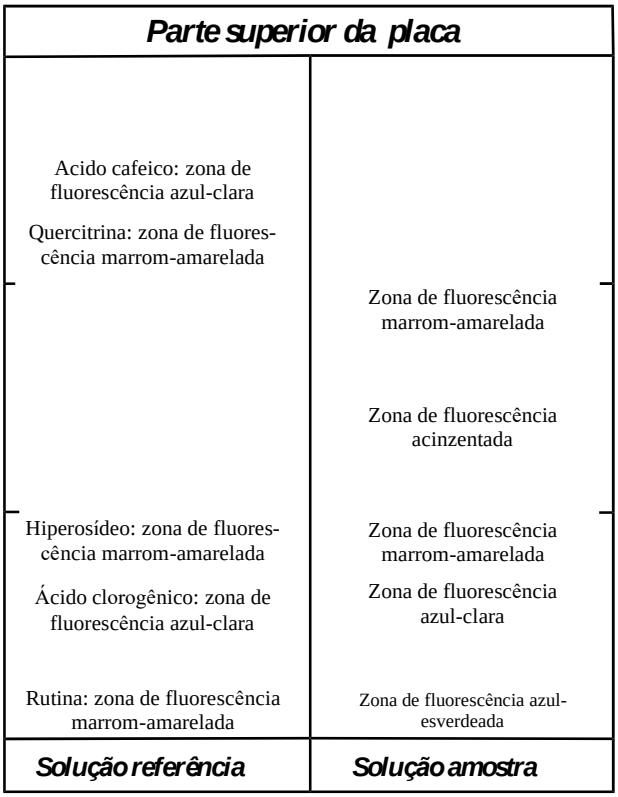
Fase móvel: acetato de etila, água, ácido fórmico anidro e ácido acético glacial (100:26:11:11)

Solução amostra: aquecer, sob refluxo, 2 g de folículos pulverizados (355 μm) **(5.2.11)**, sem sementes, com 10 mL de álcool metílico, em banho-maria, a 60 ^{o}C durante cinco minutos. Deixar esfriar e filtrar.

Solução referência: dissolver 1 mg de ácido cafeico, 1 mg de ácido clorogênico, 2,5 mg de quercitrina, 2,5 mg de rutina e 2,5 mg de hiperosídeo, em 10 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 μL da *Solução amostra*, 5 μL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. 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. Cromatograma de amostras de *Illicium anisatum* não apresentam zonas de fluorescência marrom-amareladas na mesma região ou abaixo da posição da zona de quercitrina, não apresentam fluorescência amarela na posição, ou abaixo, da zona referente ao ácido cafeico e nenhuma zona de fluorescência marrom-amarelada referente à zona do hiperosídeo.



TESTES

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

Água (5.2.20.2). *Método azeotrópico.* 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

Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais* **(5.4.1.6)**. Utilizar

balão de 250 mL contendo 100 mL de água como líquido de destilação. Reduzir o fruto a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga pulverizada. Destilar por duas horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

***Trans*-anetol**

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 250 µm 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 1,0 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 80	60→ 300
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: mistura de óleo volátil e éter etílico (2:100).

Procedimento: injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica. O *trans*-anetol apresenta tempo de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1277.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

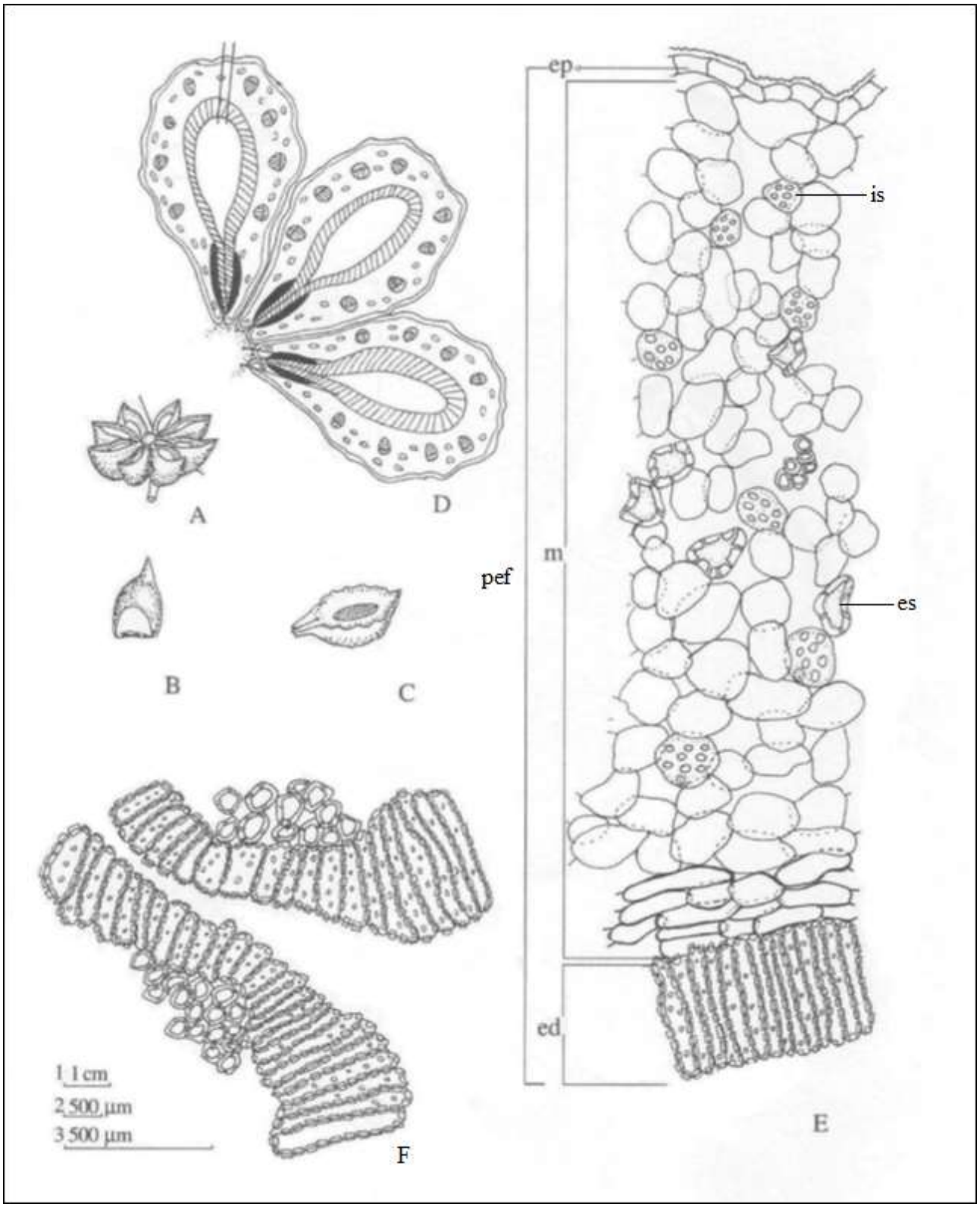


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.

As escalas correspondem: em **A**, **B**, **C** (1) a 1 cm; em **D** (2) a 500 µm; em **E**, **F** (3) a 500 µm.

A. aspecto do fruto, em vista frontal/lateral, mostrando oito folículos e a columela. **B.** detalhe de um folículo em vista dorsal. **C.** detalhe de um folículo em vista ventral, mostrando a sutura ventral e uma semente. **D.** detalhe de três folículos vistos em **A**. **E.** secção transversal do pericarpo do fruto na porção indicada em **D**; pericarpo do fruto (pef); endocarpo (ed); epicarpo (ep); mesocarpo (m); esclereídes (es); idioblastos secretores oleíferos esféricos (is.). F. detalhe do endocarpo na região comissural.

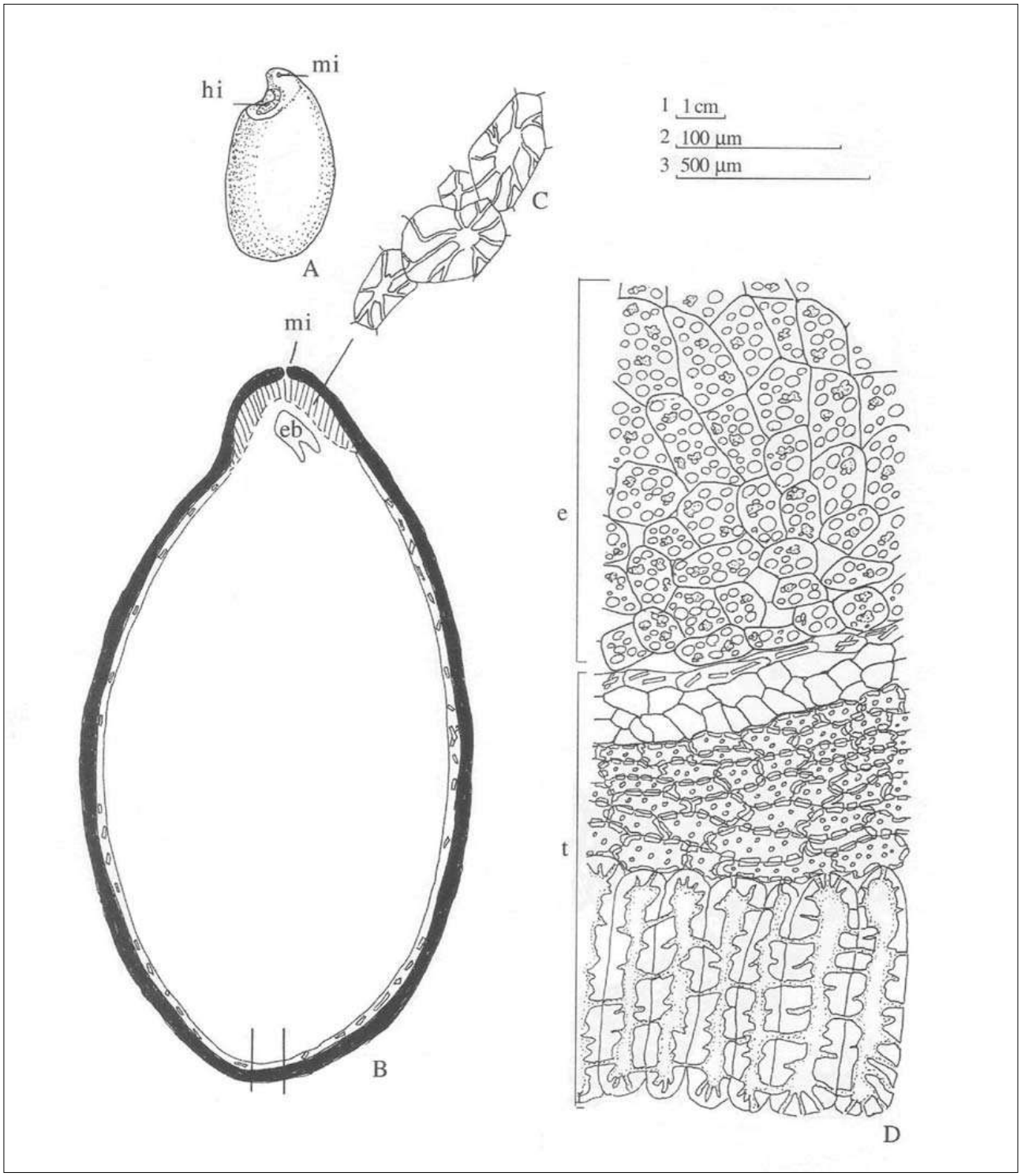


Figura 2 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.

As escalas correspondem: em **A** (1) a 1 cm; em **B** (2) a 100 µm; em **C**, **D** (3) a 500 µm.
A. semente em vista lateral; hilo (hi); micrópila (mi). **B.** semente em secção longitudinal; embrião (eb); micrópila (mi). **C.** braquiesclereídes da zona micropilar, mostrada em B. **D.** secção transversal da semente na porção indicada em B; endosperma (e); tegumento (t).

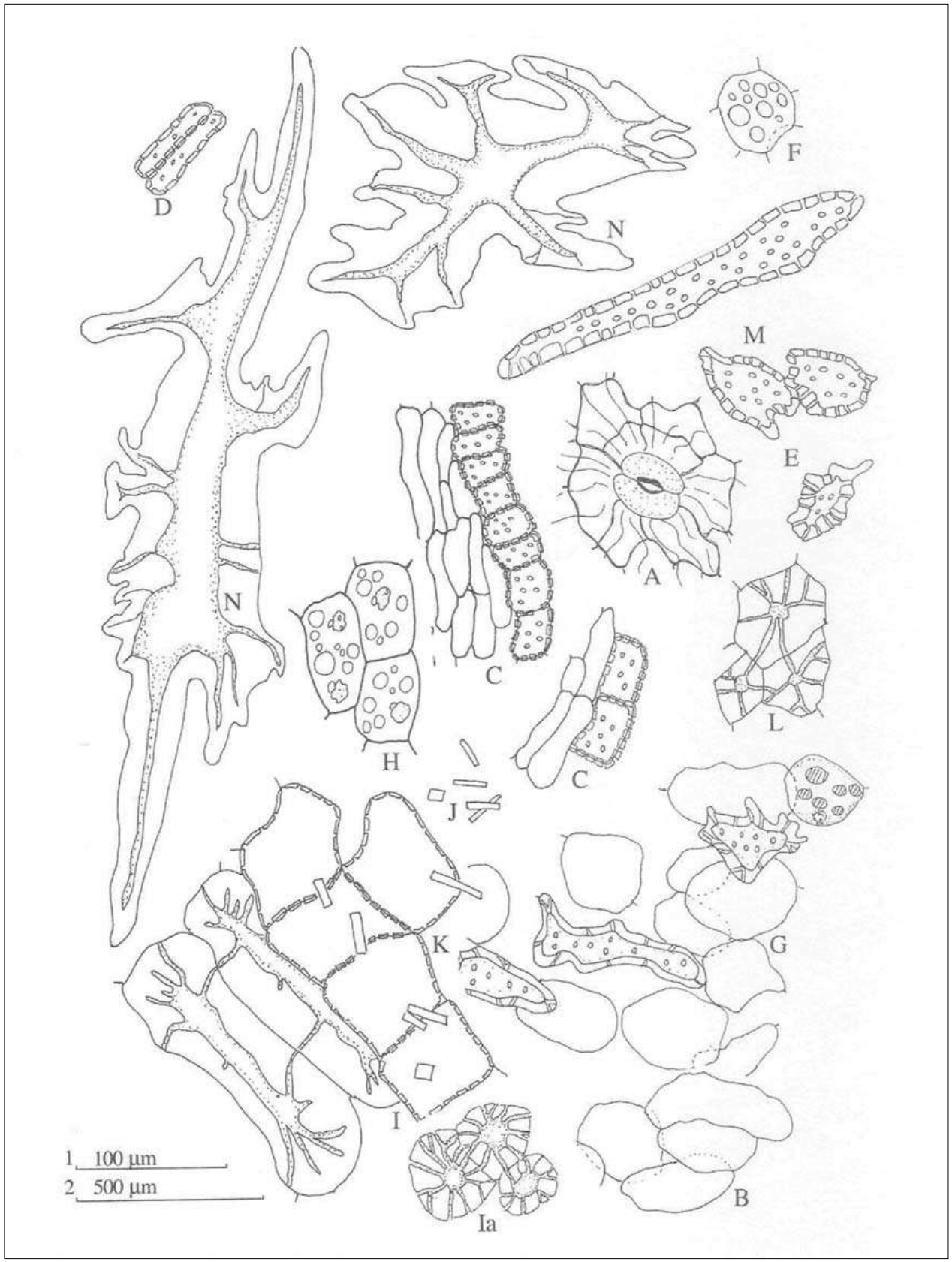


Figura 3 - Aspectos microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.

As escalas correspondem em: em **A-K** (1) a 100 µm; em **L-N** (2) a 500 µm.

A. epicarpo com estômato anomocítico e cutícula estriada. **B.** células do parênquima do mesocarpo. **C.** células da zona comissural com paredes espessadas. **D.** célula do endocarpo fora da zona comissural. **E.** esclereíde. **F.** idioblasto com gotas de óleo. **G.** porção do mesocarpo com idioblastos oleíferos e esclereides. **H.** células do endosperma com glóbulos lipídicos e grãos de aleurona. **I.** osteoesclereídes em secção transversal; os mesmos em secção tangencial (Ia). **J.** cristais prismáticos de oxalato de cálcio. **K.** células da camada cristalífera. **L.** braquiesclereídes da região comissural. **M.**

macroesclereíde alargado do mesocarpo, com paredes espessadas e pontoadas. **N.** esclereídes volumosos e ramificados do pedicelo.

ARNICA, flor
Arnicae flos

A droga vegetal consiste de inflorescências secas, inteiras ou parcialmente fragmentadas de *Arnica montana* L., contendo, no mínimo, 0,4% (p/p) de sesquiterpenos lactônicos totais expressos em tiglato de diidrohelenalina ($C_{20}H_{26}O_5$, 346,42).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As flores estão agrupadas em inflorescências do tipo capítulo heteromorfo, de coloração amarelo-alaranjada. O capítulo é constituído por um pedúnculo, um receptáculo, flores radiais liguladas e flores do disco tubulosas. O capítulo fechado mede cerca de 2 cm de diâmetro e quando com as flores radiais distendidas, mede de 5 a 6 cm de diâmetro. O pedúnculo, quando presente, mede de 2 a 3 cm de comprimento. O receptáculo, quando privado das flores, tem um diâmetro entre 6 e 10 mm e uma profundidade de 15 mm e é levemente convexo, alveolado e recoberto de tricomas brancos, curtos e duros. O receptáculo é envolvido por 18 a 24 brácteas ovalado-lanceoladas. Cada bráctea involucral apresenta ápice agudo e bordo inteiro, ciliado, medindo de 8 a 10 mm, mais raramente até 15 mm de comprimento; as brácteas internas têm coloração verde-parda e são mais curtas; as brácteas externas são verdes. As flores liguladas radiais são zigomorfas e femininas, em número de 14 a 20, e medem de 20 a 30 mm de comprimento. Cada flor ligulada apresenta um cálice reduzido, denominado papus, que é formado por uma série de cerdas esbranquiçado-amareladas grossas, rígidas, medindo de 4 a 8 mm de comprimento; o limbo da corola é oblongo, de coloração amarelo-alaranjada e apresenta de sete a 10 nervuras paralelas, culminando em três lóbulos pequenos e desiguais; os estames não são completamente desenvolvidos e apresentam anteras livres e o ovário é ínfero, estreito, de coloração parda, medindo de 4 a 5 mm de comprimento. As flores tubulosas do disco são actinomorfas e perfeitas, em número muito maior do que as flores liguladas e medem até 15 mm de comprimento; cada uma apresenta um cálice reduzido, denominado papus, queé formado por uma série de cerdas esbranquiçado-amareladas rígidas, com até 8 mm de comprimento; a corola é curta, de coloração amarelo-alaranjada, mede cerca de 8 mm de comprimento e tem cinco lobos triangulares reflexos; os estames são cinco, férteis e estão soldados pelas anteras formando um tubo; as tecas são elipsoidais e o conetivo prolonga-se numa escama triangular e o ovário é ínfero, estreito, de coloração parda, medindo de 4 a 8 mm de comprimento e apresenta quatro ou cinco arestas longitudinais visíveis. Os frutos, quando presentes, são aquênios pardos, coroados ou não pelo papus.

B. Descrição microscópica

As brácteas involucrais e flores apresentam em suas faces abaxiais, ou raramente nas adaxiais, tricomas tectores e glandulares. Os tricomas tectores são unicelulares ou bicelulares, com célula apical mais longa, aguda, ou ainda pluricelulares, unisseriados, com três a 10 células, das quais uma ou algumas células distais são mais longas, sendo as células proximais às vezes de paredes espessas. Os tricomas glandulares apresentam pedicelo pluricelular, uni ou bisseriado, com cabeça glandular globosa, ovoide ou claviforme, unisseriada ou bisseriada, unicelular ou pluricelular. Brácteas involucrais e flores apresentam em suas faces abaxiais estômatos anomocíticos. As brácteas involucrais, em vista frontal, apresentam a face abaxial da epiderme com células de paredes anticlinais onduladas e a face adaxial com células de paredes anticlinais poligonais a pouco onduladas e, em secção transversal, um parênquima fundamental frouxo, com feixes vasculares correspondentes às nervuras de cada bráctea. As cerdas do cálice, na forma de papus, são compostas cada uma por duas a três fileiras de células alongadas, agudas na porção distal, e por um maior número de fileiras

de células na porção proximal. A corola da flor ligulada, em vista frontal, apresenta epiderme da face adaxial com células de paredes anticlinais poligonais, papilosas, sendo visíveis estrias epicuticulares e gotas lipídicas; a epiderme da face abaxial apresenta células de paredes anticlinais alongadas, quase retas, mas visivelmente onduladas na porção distal. A corola da flor tubulosa, em vista frontal, apresenta epiderme com células de paredes anticlinais levemente onduladas nas duas faces da porção distal das pétalas, e mais poligonais na porção mediana, as células da região do tubo têm paredes anticlinais poligonais; na porção distal e triangular de cada pétala ocorrem papilas digitiformes; gotas lipídicas podem estar presentes. As anteras, em secção transversal, mostram um endotécio espessado nas paredes laterais. Os grãos de pólen são triporados, arredondados, com exina equinada, e medem cerca de 30 μm. O ovário, em vista frontal, apresenta epiderme com células alongadas, com placas reticuladas de coloração escura, pela presença de fitomelanina. Os ramos estigmáticos do estilete apresentam em sua porção distal tricomas unicelulares cônicos e pontiagudos e sob o tapete formado por estes tricomas observam-se papilas arredondadas. O fruto, quando presente, tem as mesmas características epidérmicas do ovário, principalmente os tricomas glandulares e as placas de fitomelanina evidentes.

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 SR. São características: porções de epiderme das brácteas involucrais com estômatos e tricomas como os descritos, mais abundantes na face abaxial; tricomas ou seus fragmentos, conforme descritos; fragmentos de corolas liguladas, com tricomas conforme descritos; fragmentos da porção distal da corola ligulada cobertos de papilas arredondadas; fragmentos de corolas tubulosas com tricomas conforme descritos; fragmentos da porção distal da corola tubulosa cobertos de papilas digitiformes; fragmentos de ovário com os dois tipos de tricomas característicos, como descritos e às vezes com placas de fitomelanina; porções do papus ou fragmentos de cerdas do papus conforme descritos; grãos de pólen triporados, arredondados, com exina equinada.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

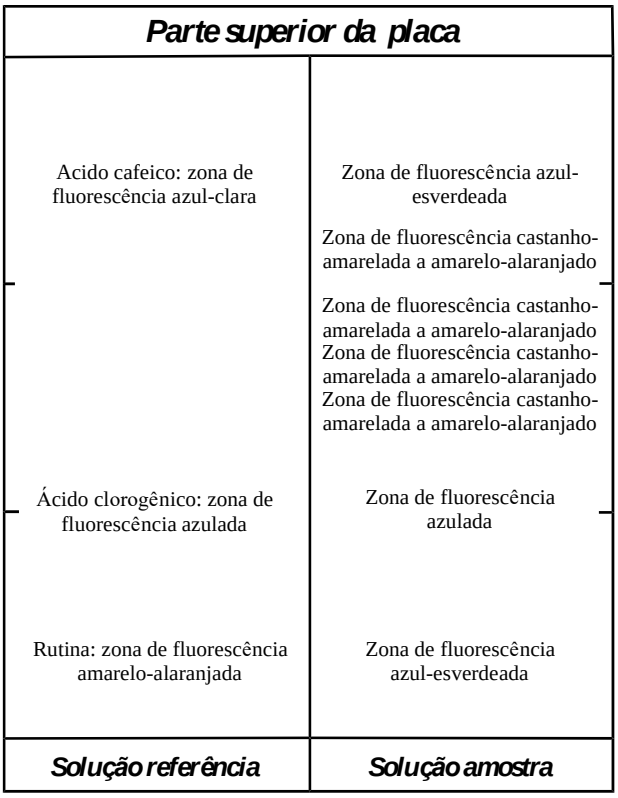
Fase móvel: acetato de etila, metil-etil-cetona, ácido fórmico anidro e água (50:30:10:10).

Solução amostra: a 2 g da amostra pulverizada, adicionar 10 mL de álcool metílico e aquecer, em banho-maria, a 60 °C, sob agitação, durante cinco minutos. Resfriar a solução e, em seguida, filtrar.

Solução referência: dissolver 2 mg de ácido cafeico, 2 mg de ácido clorogênico e 5 mg de rutina em álcool metílico e ajustar o volume para 30 mL com álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de bandas de 20 mm, a 1 cm de distância, 15 μL da *Solução amostra* e 15 μL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, a seguir, com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico e aquecer entre 100 °C e 105 ºC durante 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. O cromatograma obtido coma *Solução amostra* não deve apresentar zona de coloração amarelo-alaranjada correspondente à rutina e, abaixo desta, não deve ser observada outra zona.



TESTES

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

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 5,0% de caules com um diâmetro superior a 5 mm.

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

Sesquiterpenos lactônicos totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 225 nm; coluna de 0,12 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 μm); fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Eluente (A): água.

Eluente (B): álcool metílico.

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
0-3	62	38	isocrática
3-20	62 → 55	38 → 45	gradiente linear
20-30	55	45	isocrática
30-55	55 → 45	45 → 55	gradiente linear
55-57	45 → 0	55 → 100	gradiente linear
57-70	0 → 62	100 → 38	gradiente linear
70-90	62	38	isocrática

Solução de padrão interno: dissolver, imediatamente antes do uso, 0,01 g de santonina exatamente pesado em 10 mL de álcool metílico.

Solução amostra: em balão de fundo redondo de 250 mL, introduzir 1 g da amostra pulverizada. Adicionar 50 mL de uma mistura de volumes iguais de álcool metílico e água e aquecer, sob refluxo, em banho-maria entre 50 °C e 60 ºC, durante 30 minutos agitando frequentemente. Deixar esfriar e em seguida, filtrar utilizando filtro de papel. Transferir o filtro cortado em pedaços grandes e o resíduo para o balão de fundo redondo, adicionar 50 mL de uma mistura de volumes iguais de álcool metílico e água e aquecer, sob refluxo, em banho-maria entre 50 ºC e 60 ºC, durante 30 minutos, agitando frequentemente. Repetir a operação duas vezes. Reunir os filtrados, adicionar 3 mL da *Solução de padrão interno* e evaporar, a pressão reduzida, até a obtenção de um volume de 18 mL. Lavar o balão de fundo redondo com água e completar 20 mL com as águas de lavagem. Transferir a solução para uma coluna cromatográfica com cerca de 0,15 m de comprimento e cerca de 30 mm de diâmetro interno, contendo 15 g de sílica para cromatografia. Deixar em repouso durante 15 minutos e, a seguir, eluir com 200 mL de uma mistura de volumes iguais de acetato de etila e cloreto de metileno. Evaporar o eluato à secura, num balão de fundo redondo de 250 mL. Dissolver o resíduo em 10 mL de álcool metílico, adicionar 10 mL de água e, em seguida, 7 g de óxido de alumínio neutro. Agitar durante dois minutos, centrifugar durante 10 minutos a 6.000 × *g* e filtrar utilizando filtro de papel. Evaporar à secura 10 mL do filtrado. Dissolver o resíduo em 3 mL de uma mistura de iguais volumes de álcool metílico e água e filtrar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar separadamente, 20 µL da *Solução de padrão interno* e 20 µL da *Solução amostra.* Calcular o teor de sesquiterpenos lactônicos totais, expressos em tiglato de helenalina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TSLT} = \frac{\mathrm{A}_a \times \mathrm{C}_r \times \mathrm{V} \times 1{,}187}{\mathrm{A}_r \times m_a \times 10}$$

em que,

TSLT = teor de sesquiterpenos lactônicos totais expressos em tiglato de helenalina % (p/p);
A_a = área total sob os picos correspondentes aos sesquiterpenos lactônicos que aparecem depois do pico da santonina na *Solução amostra*;
A_r = área sob o pico correspondente à santonina na *Solução amostra*;
m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;
C_r = concentração da santonina na *Solução de padrão interno* em mg/mL, considerando a pureza da substância de referência;
V = volume em mililitros da *Solução de padrão interno* utilizado na *Solução amostra*;
1,187 = fator de correção entre o tiglato de diidrohelenalina e a santonina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

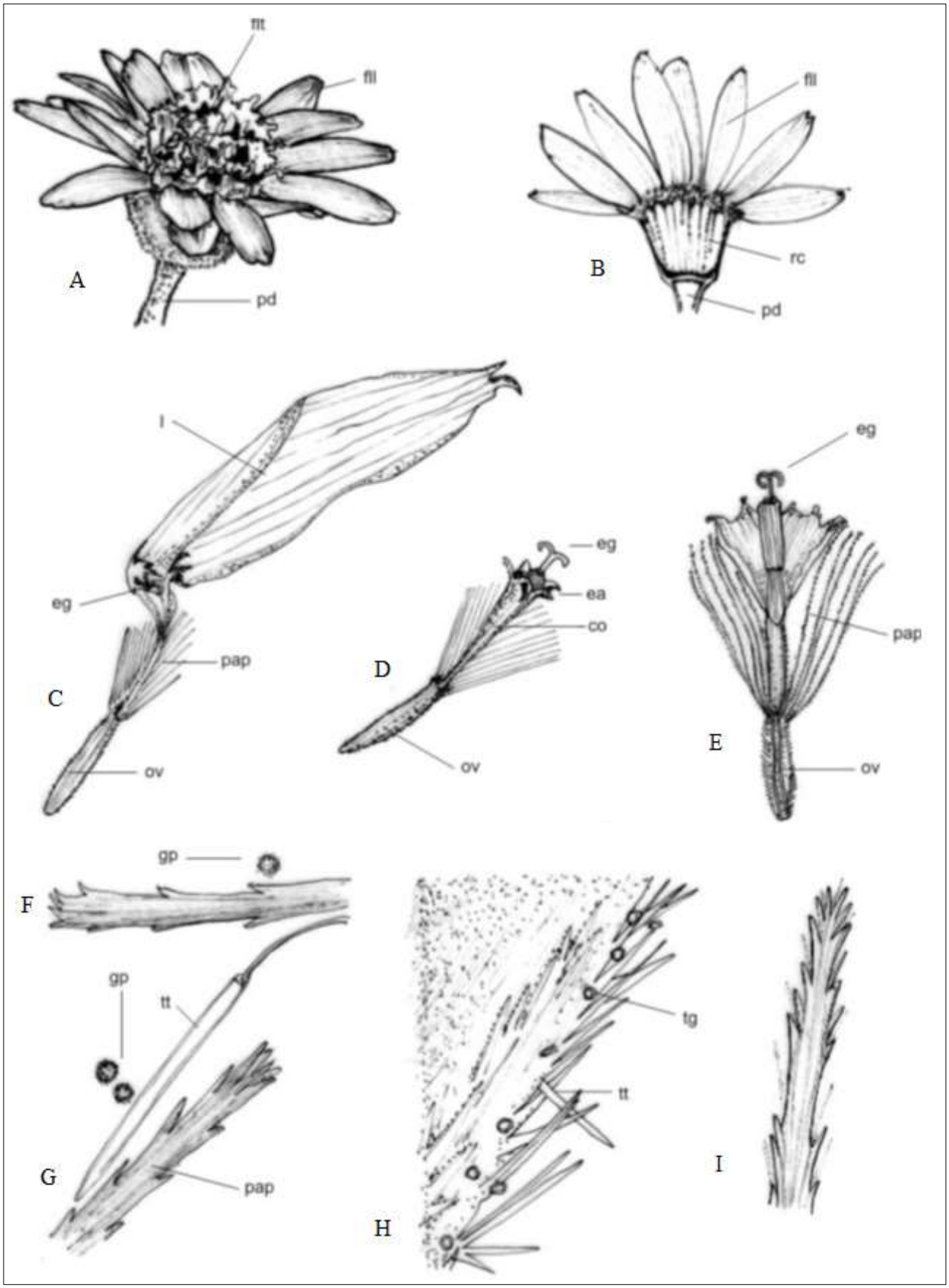


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Arnica montana* L.

A. capítulo floral; flor tubular (flt); flor ligulada (fll); pedúnculo (pd). **B.** capítulo floral com flores tubulosas retiradas, para observação do receptáculo; flor ligulada (fll); receptáculo (rc); pedúnculo (pd). **C.** flor ligulada; ovário (ov); papus

(pap); estigma bífido (eg); lígula (l). **D.** flor tubulosa; ovário (ov); estame com antera soldada (ea); estigma bífido (eg); corola (co). **E.** flor tubulosa; ovário (ov); papus (pap); estigma bífido (eg). **F.** detalhe de uma cerda do papus: grão de pólen (gp). **G.** detalhe de uma cerda do papus; grão de pólen (gp); papus (pap); tricoma tector (tt). **H.** superfície externa do ovário; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **I.** fragmento do papus.

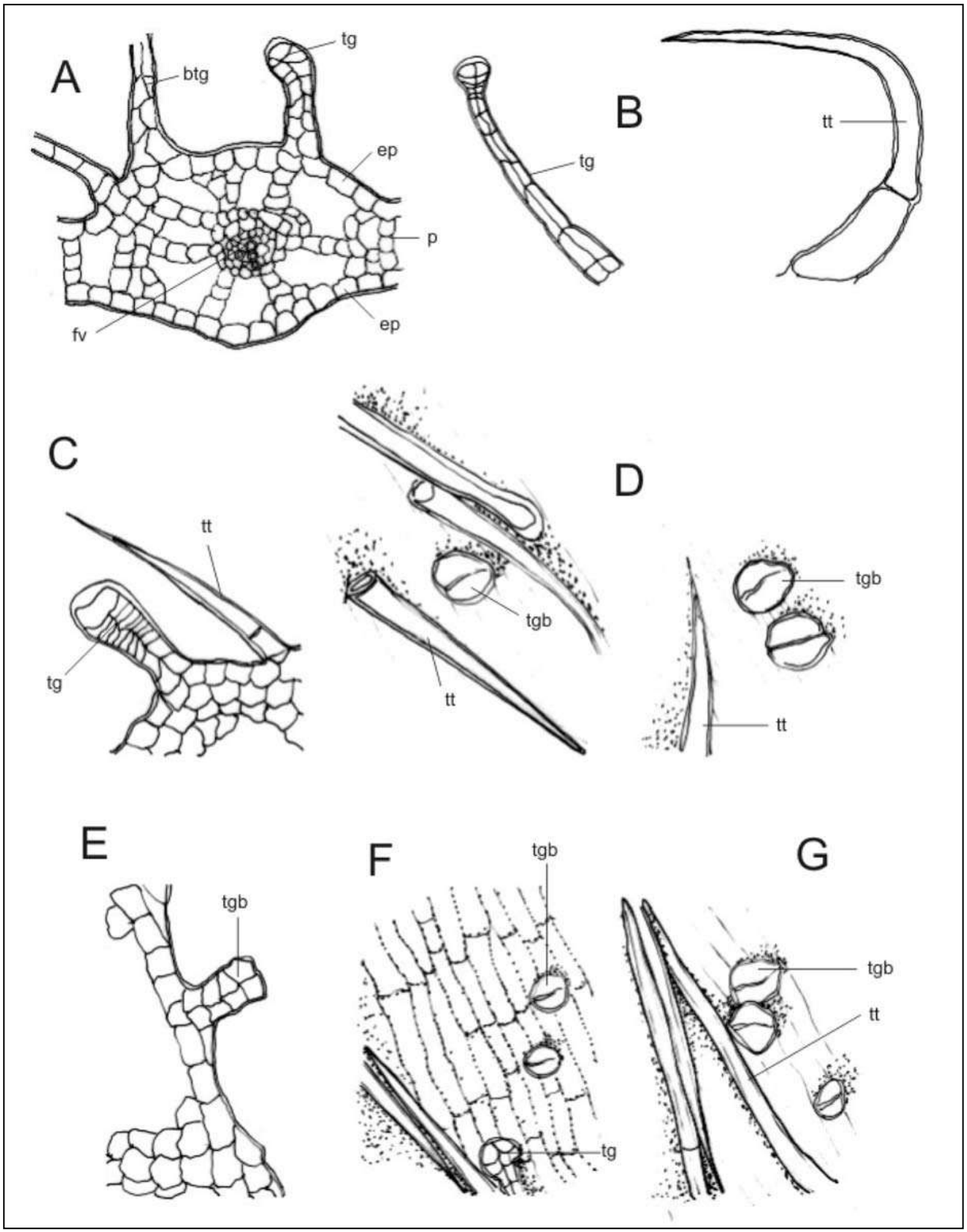


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Arnica montana* L.

A – corte transversal da bráctea: epiderme (ep); parênquima (p); feixe vascular (fv); tricoma glandular (tg); base do tricoma glandular (btg). **B** e **C** – detalhes dos tricomas glandular e tector: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** –

superfície externa do ovário vista de cima: tricoma glandular com cabeça bicelular (tgb), com corpo bisseriado. **E** – aspectos dos tricomas glandulares. **F** e **G** – fragmento da epiderme inferior: tricoma glandular (tg); tricoma glandular com cabeça bicelular (tgb).

AROEIRA, casca
Schinus terebinthifolii cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas do caule de *Schinus terebinthifolia* Raddi, contendo, no mínimo, 8% de taninos totais, no mínimo, 0,20% de ácido gálico ($C_7H_6O_5$, 170,12), e, no mínimo, 0,65% de catequina ($C_{15}H_{14}O_6$, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares secas apresentam-se em fragmentos ligeiramente curvos, rígidos e pouco quebradiços, de 10 a 15 cm de comprimento, 2 a 2,5 cm de largura e 0,2 a 0,5 cm de espessura. Externamente a casca apresenta ritidoma rugoso, marcado por fendas irregulares, de coloração pardo-acinzentada e com manchas esbranquiçadas, devido à presença de líquens. Internamente os fragmentos apresentam coloração pardo-avermelhada, de aparência resinosa e com estrias longitudinais.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o córtex apresenta súber composto por aproximadamente 15 camadas de células achatadas radialmente, com lenticelas visíveis, seguido pela periderme de felogênio indistinto e feloderme, em cujas células parenquimáticas corticais são visíveis várias calotas de fibras esclerenquimáticas e canais secretores. É possível observar os raios parenquimáticos atravessando toda a espessura do córtex. Ao redor dos canais secretores ocorrem células contendo grãos de amido. Em secção longitudinal radial é visível o súber com células achatadas radialmente e as células do parênquima cortical com formatos irregulares e fibras esclerenquimáticas presentes. Faixas de células parenquimáticas se alternam com faixas floemáticas, essas com fibras abundantes, que dificultam a visualização das células do floema. Os raios são heterocelulares, constituídos por células parenquimáticas procumbentes, que são alongadas no sentido radial, e células eretas, essas localizadas nas margens superior e inferior do raio. As células das faixas parenquimáticas mostram-se em sua maioria alongadas longitudinalmente e algumas são arredondadas. No floema é possível observar células parenquimáticas contendo cristais prismáticos. Em secção longitudinal tangencial os raios são bisseriados e os canais secretores são ramificados.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; presença de células pétreas; presença de fragmentos de súber; cristais prismáticos e fragmentos de parênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}, com espessura de 250 µm.

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

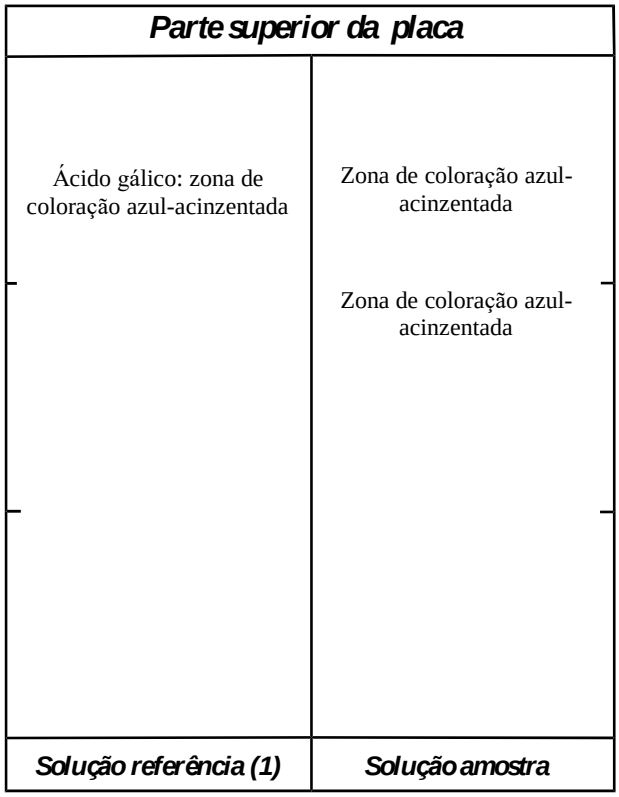
Solução amostra: pesar 1 g da droga pulverizada e colocar em balão de fundo redondo adicionando 10 mL de álcool metílico. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão.

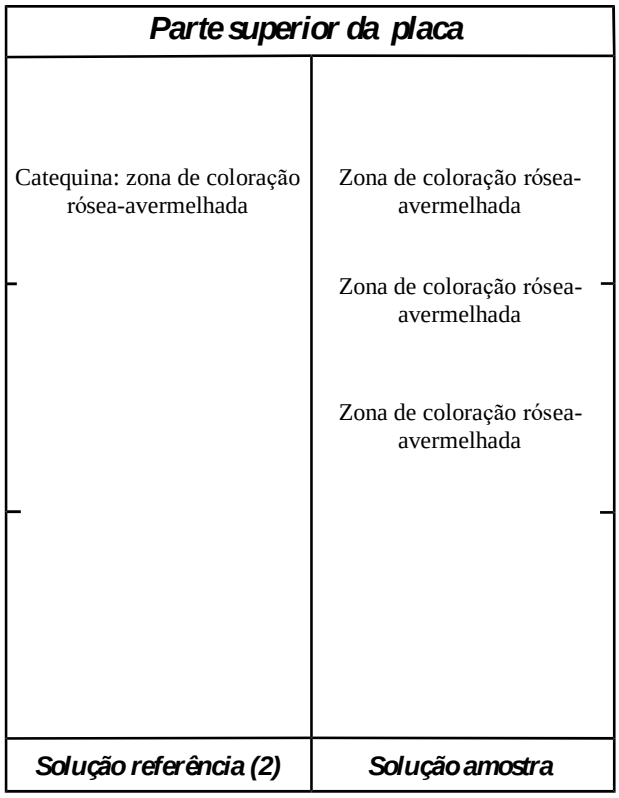
Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaca, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplacas 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.





TESTES

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

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 9,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). 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 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água destilada e aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura entre 85 °C e 90 °C. Resfriar em água

corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro o líquido sobrenadante. 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 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 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. 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 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.

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 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 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 durante 30 minutos, à temperatura de 85 °C a 90 °C. 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. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado. Filtrar em unidade filtrante 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 6,48 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 18 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 9,9 e 17,7 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 250 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 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.

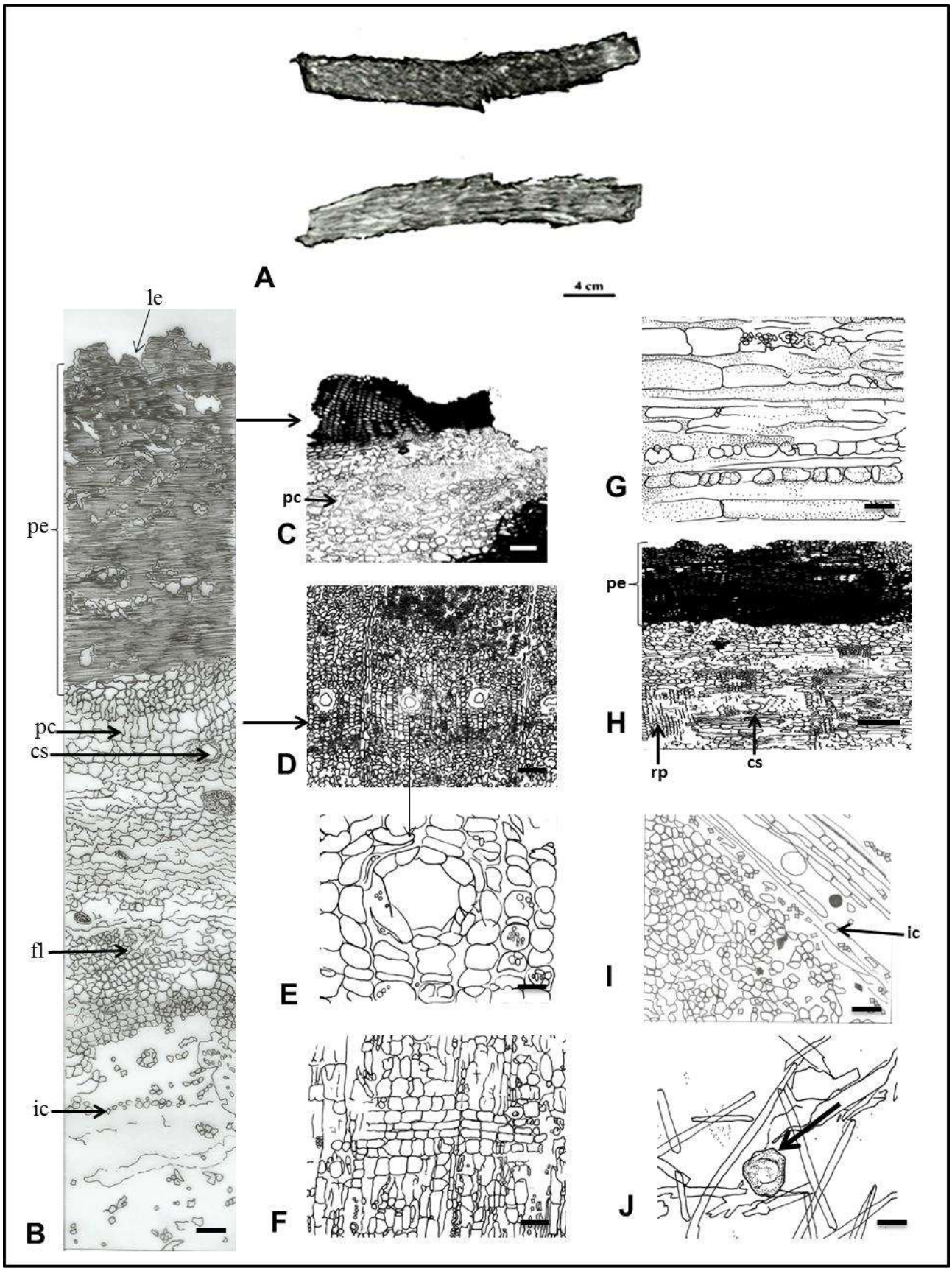


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Schinus terebinthifolia* Raddi

As escalas correspondem em **A** a 4 cm; B a 25 µm, C e J a 100 µm; D, F, G e I a 200 µm; e E e H a 50 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: lenticela (le); periderme (pe); célula do parênquima cortical (pc); canal secretor (cs); floema (fl); idioblasto cristalífero (ic). **C** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando periderme; parênquima

cortical (pc). **D** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando floema, faixa de parênquima cortical, raios parenquimáticos e canal secretor. **E** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando um canal secretor na região cortical. **F** - detalhe de secção longitudinal da casca, com faixas de parênquima cortical e de floema com fibras abundantes. **G** - detalhe de secção longitudinal da casca, com faixas parenquimáticas mostrando células alongadas e algumas arredondadas. **H** - detalhe de secção longitudinal radial da casca mostrando a periderme (pe), canal secretor (cs) e as células parenquimáticas dos raios (rp). **I** - detalhe de secção longitudinal radial da casca com cristais prismáticos em células do floema; idioblasto cristalífero (ic). **J** - célula pétrea (seta).

BABOSA, folha
Aloe vera folium

A droga vegetal consiste do gel incolor, mucilaginoso, obtido das células parenquimáticas de folhas frescas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. contendo, no mínimo, 0,3% de carboidratos totais.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta sabor ligeiramente amargo, sendo incolor e inodora.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas suculentas, lanceoladas, agudas, verde-glaucas, com manchas esbranquiçadas quando jovens, medindo de 15 a 60 cm de comprimento e cerca de 7 cm de largura na base na face adaxial e 10 cm na face abaxial, quando adultas. A face adaxial, vista em secção transversal, é côncava e a face abaxial convexa. Os bordos foliares são dentado-espinhosos, apresentando acúleos esbranquiçados pequenos, perpendiculares à lâmina.

B. Descrição microscópica

A folha, em secção transversal, mostra estrutura isobilateral e é anfiestomática, com estômatos numerosos, do tipo tetracítico. Apresenta uma única camada epidérmica, recoberta por espessa cutícula ondulada. A secção transversal da lâmina foliar mostra duas zonas distintas, a mais externa verde, correspondente ao clorênquima e a mais interna incolor e mucilaginosa, correspondente ao parênquima aquífero. Abaixo da epiderme pode ocorrer uma primeira camada distinta de células clorenquimáticas, em paliçada, seguida de 10 a 18 camadas de células clorenquimáticas, ricas em amido, além de idioblastos contendo feixes de ráfides de oxalato de cálcio. Na zona de contato entre o clorênquima e o parênquima aquífero ocorrem feixes vasculares do tipo colateral, em linha paralela à epiderme, alternados com três a cinco células de clorênquima. A porção superior de cada feixe encontra-se em contato com o clorênquima e as porções mediana e inferior penetram no parênquima aquífero. Os feixes vasculares são envolvidos por uma bainha parenquimática contendo amido. Internamente a essa camada e próximo ao floema, encontra-se um agrupamento de três a cinco células muito grandes, além de outras menores, poliédricas, um pouco alongadas em direção ao eixo da folha, e de paredes finas, chamadas células aloéticas, repletas de látex amarelo, viscoso, denominado de líquido aloético ou suco de aloe. No momento em que a folha é seccionada transversalmente há o extravasamento do líquido aloético proveniente de cada feixe. O floema é externo e pouco desenvolvido, e o xilema é formado por dois a quatro elementos traqueais com algumas fibras. O parênquima aquífero ocupa geralmente 75% da espessura da lâmina, sendo formado por células muito grandes em relação às do clorênquima, incolores, de paredes finas, cheias de mucilagem, dispostas perpendicularmente à epiderme. Idioblastos contendo ráfides de oxalato de cálcio também ocorrem nesse parênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

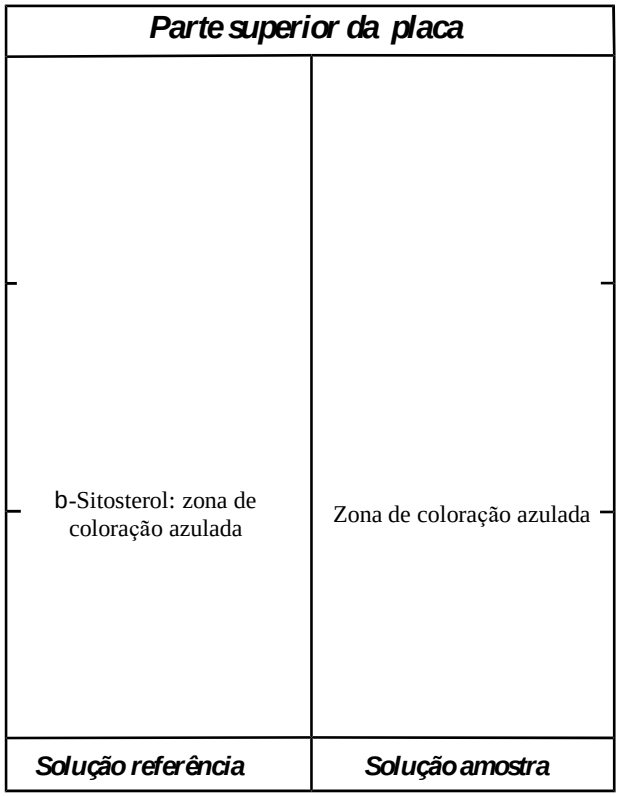
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (90:10).

Solução amostra: transferir 2 mL de gel líquido de aloe para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com álcool metílico e aquecer em banho-maria a 60 °C sob agitação durante 10 minutos.

Solução referência: dissolver 2 mg de β-sitosterol em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de barra, 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 anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 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.



TESTES

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

Carboidratos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: transferir 3 mL de gel líquido de aloe para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água. Homogeneizar por turbolização durante cinco minutos.

Solução amostra: transferir 0,2 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio, completar o volume para 0,5 mL com água e deixar em banho de gelo. Adicionar 0,5 mL de solução de fenol a 5% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar bem e deixar em repouso a temperatura ambiente por 30 minutos.

Solução branco: transferir 0,5 mL de água para tubo de ensaio e deixar em banho de gelo. Adicionar 0,5 mL de solução de fenol a 5% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar bem e deixar em repouso a temperatura ambiente por 30 minutos.

Soluções para curva analítica: preparar solução de glicose a 0,2 mg/mL. Transferir alíquotas de 25 μL, 50 μL, 100 μL, 150 μL, 200 μL e 250 μL dessa solução para tubos de ensaio e completar o volume para 0,5 mL com água, obtendo-se as concentrações 10 μg/mL, 20 μg/mL, 40 μg/mL, 60 μg/mL, 80 μg/mL e 100 μg/mL, e deixar em banho de gelo. Adicionar 0,5 mL de solução de fenol a 5% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar bem e deixar em repouso a temperatura ambiente por 30 minutos.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* e das *Soluções para curva analítica* em 490 nm, 30 minutos após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de carboidratos totais da amostra a partir da curva analítica obtida com as *Soluções para curva analítica*. O resultado é expresso em porcentagem de carboidratos totais, expressos como glicose, por 100 mL de droga.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

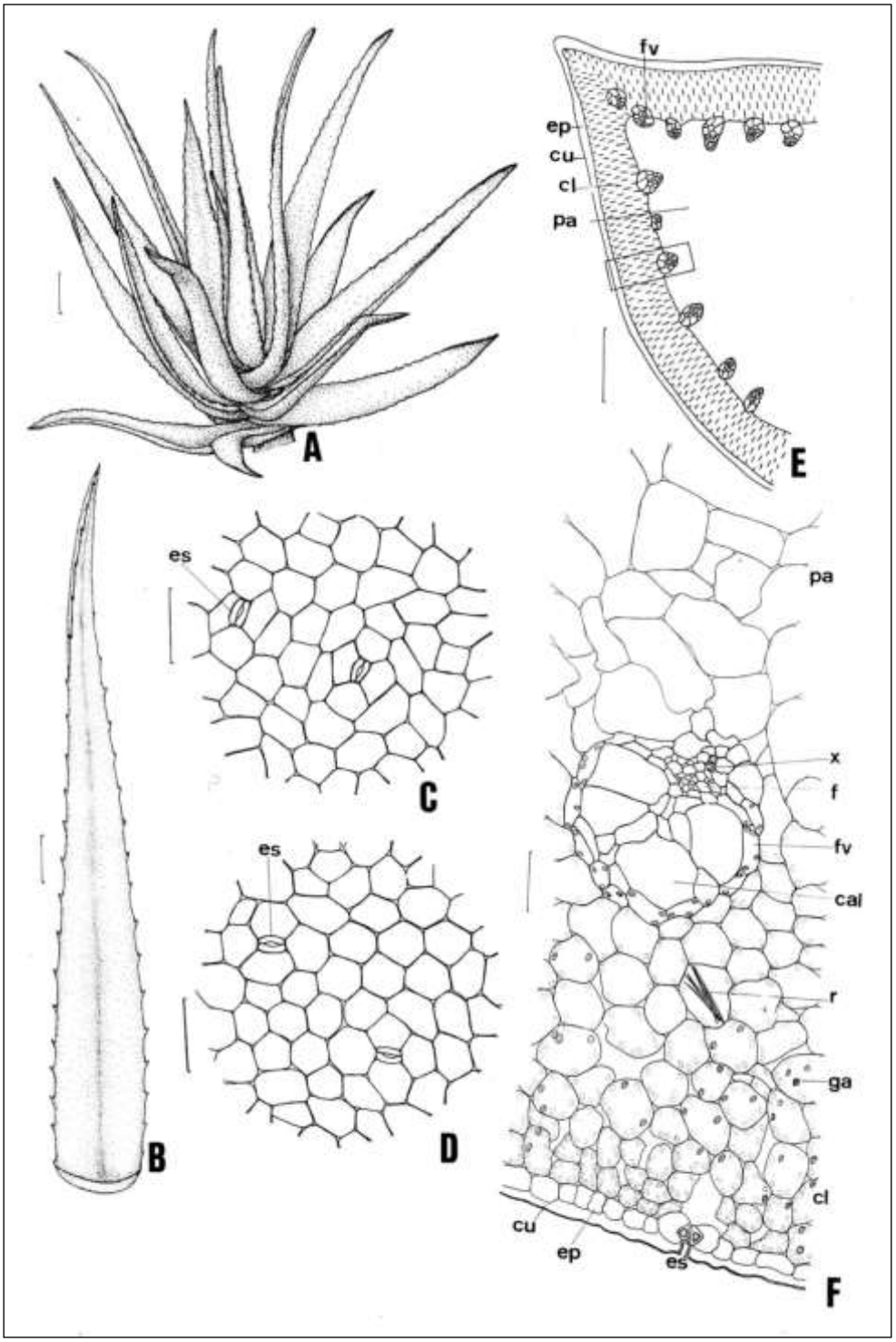


Figura 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Aloe vera* (L.) Burm. f.

As escalas correspondem em **A** a 6 cm, em **B** a 2 cm; em **C**, **D** e **F** a 100 μm e em **E** 1 mm.
A - aspecto geral da planta sem a inflorescência. **B** - aspecto geral de uma folha. **C** - vista frontal da epiderme voltada para a face adaxial; estômatos (es). **D** - vista frontal da epiderme voltada para a face abaxial; estômatos (es). **E** - aspecto geral da folha em secção transversal; clorênquima (cl); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima aqüífero (pa); feixe vascular (fv). **F** - detalhe da porção assinalada em **E**; célula aloética (cal); clorênquima (cl); cutícula (cu); epiderme (ep); estômato (es); floema (f); feixe vascular (fv); grão de amido (ga); parênquima aquífero (pa); ráfides (r); xilema (x).

BÁLSAMO-DE-TOLU

Balsamum tolutanum

O bálsamo-de-tolu consiste de oleorresina obtido do tronco de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *balsamum*. Contém, no mínimo, 25% e, no máximo, 50% de ácidos livres ou combinados, expressos em ácido cinâmico ($C_9H_8O_2$, M 148,16).

CARACTERÍSTICAS

Massa acastanhada a castanho-avermelhada, dura, friável e cujos fragmentos finos apresentam cor amarelo-acastanhada por transparência. Odor semelhante ao da baunilha.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

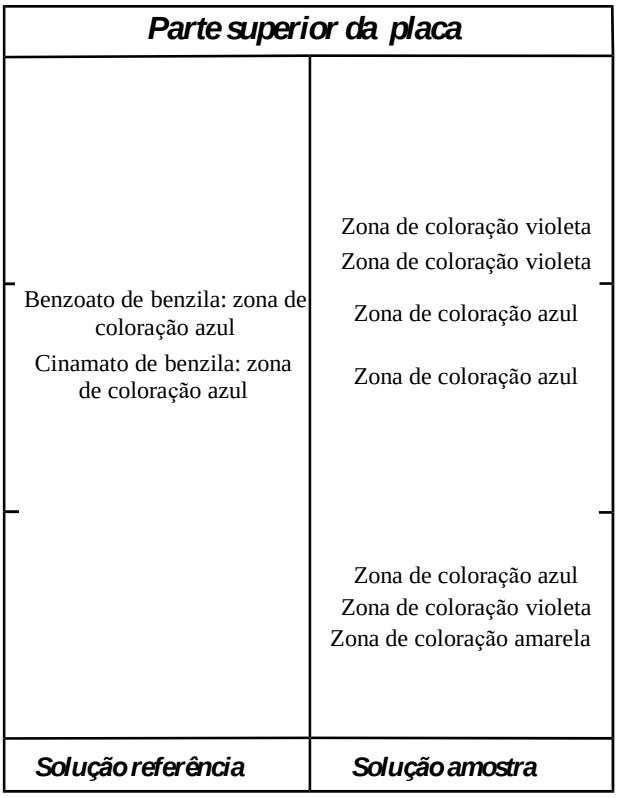
Fase móvel: tolueno e éter de petróleo (95:5).

Solução amostra: agitar 0,4 g da amostra fragmentada com 10 mL de cloreto de metileno durante cinco minutos. Filtrar em papel de filtro pregueado.

Solução referência: dissolver 50 mg de cinamato de benzila em 1 mL de cloreto de metileno, adicionar 50 µL de benzoato de benzila, completar o volume para 10 mL com cloreto de metileno 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer em estufa entre 100 ºC e 105 ºC, 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.



TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e éter de petróleo, muito solúvel em álcool etílico, solúvel em acetona e clorofórmio.

Índice de acidez (5.2.29.7). 100 a 160. Dissolver 1 g da amostra fragmentada em 50 mL de álcool etílico neutralizado. Adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de potássio etílico 0,5 *M* SV.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 154 a 220.

Limite de substâncias insolúveis em álcool. No máximo, 5,0%. Aquecer à ebulição 2 g da amostra fragmentada com 25 mL de álcool etílico a 90% (v/v). Filtrar em filtro de vidro poroso, previamente tarado. Lavar o recipiente e o resíduo contido no funil com álcool etílico a 90% (v/v) a quente, até a extração completa. Aquecer o funil de vidro e o seu conteúdo em estufa a 105 ºC, durante duas horas. Resfriar em dessecador e pesar.

Colofônia. Triturar 1 g da amostra com 10 mL de éter de petróleo durante um a dois minutos. Filtrar para tubo de ensaio e adicionar 10 mL de solução de acetato de cobre a 0,5% (p/v) recentemente preparada. Agitar, energicamente, e deixar separar as fases. A camada etérea não deve apresentar coloração verde.

Água (5.4.1.4). No máximo 5,0%. Espalhar 2 g da amostra fragmentada na superfície de um cristalizador plano de 9 cm de diâmetro e deixar secar à pressão reduzida, durante quatro horas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 0,3%.

DOSEAMENTO

Ácidos livres ou combinados expressos em ácido cinâmico

Aquecer, sob refluxo, em banho-maria, 1,5 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 à 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, em papel de filtro, 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 de cloreto de metileno e dessecar com 10 g de sulfato de sódio anidro. Filtrar, em papel de filtro, 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, à 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 ($C_9H_8O_2$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor, não conservar na forma de pó.

BÁLSAMO-DO-PERU
Balsamum peruvianum

A droga vegetal consiste do bálsamo obtido a partir do tronco escarificado à quente de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *pereirae* (Royle) Harms, contendo, no mínimo, 45,0% e, no máximo, 70,0% de ésteres, principalmente benzoato de benzila e cinamato de benzila.

CARACTERÍSTICAS

Líquido viscoso, límpido, castanho-escuro a castanho-avermelhado. Quando examinado em camada fina apresenta cor castanho-amarelada. Possui odor característico, aromático, que lembra o da baunilha. Não se solidifica em exposição ao ar, nem por tempo prolongado ou por aquecimento, e não produz filamentos.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

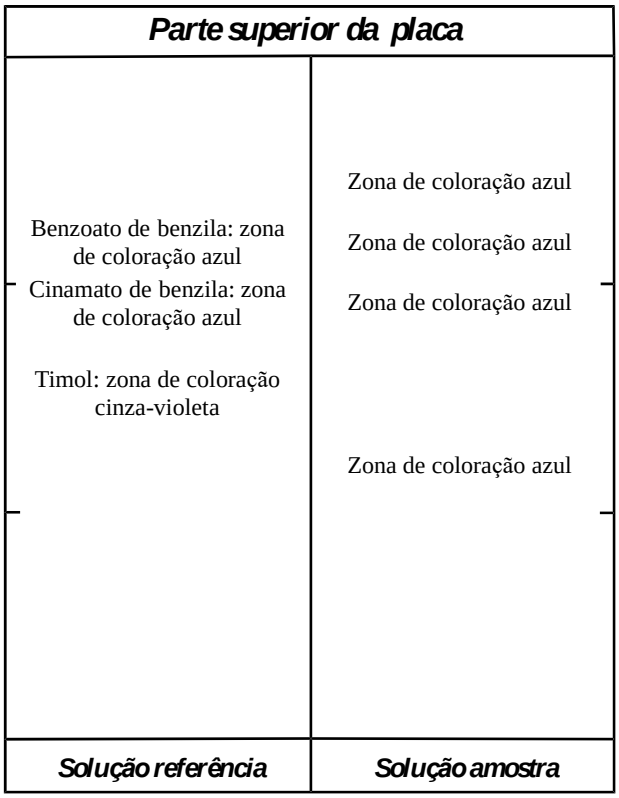
Fase móvel: hexano, acetato de etila e ácido acético glacial (90:10:0,5).

Solução amostra: dissolver 0,5 g da amostra em 10 mL de acetato de etila.

Solução referência: dissolver 4 mg de timol, 30 mg de cinamato de benzila e 80 µL de benzoato de benzila 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 em 254 nm. Nebulizar a placa com solução recém preparada de ácido fosfomolíbdico a 20% (p/v) em álcool etílico, utilizando 10 mL para uma placa com dimensões 20 mm × 20 mm, aquecer entre 100 °C e 105 ºC, durante cinco a 10 minutos. Examinar o cromatograma à luz do dia. Examinar sob a luz ultravioleta em 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.



TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, muito solúvel em álcool etílico, solúvel em clorofórmio e ácido acético, pouco solúvel em éter etílico e éter de petróleo, imiscível nos óleos graxos, exceto em óleo de rícino.

Densidade relativa (5.2.5). 1,14 a 1,17.

Índice de acidez (5.2.29.7). 56 a 84. Dissolver 1 g da amostra em 100 mL de álcool etílico neutralizado, adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de potássio 0,5 *M* em álcool etílico SV.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 230 a 255. Determinar no resíduo obtido em *Doseamento*.

Bálsamos artificiais. Agitar, vigorosamente, 0,2 g da amostra com 6 mL de éter de petróleo. A solução de éter de petróleo deverá permanecer transparente e incolor e todas as partes insolúveis do bálsamo estarão aderidas nas paredes do tubo de ensaio.

Terebintina. Evaporar 4 mL da solução obtida em *Bálsamos artificiais*. O resíduo não apresenta odor de terebintina.

Óleos graxos. Agitar 1 g da amostra com 3 mL de uma solução de hidrato de cloral a 1000 g/L. A solução obtida é transparente assim como a solução de hidrato de cloral a 1000 g/L.

DOSEAMENTO

Ésteres

Em funil de separação, adicionar 2,5 g da amostra, 7,5 mL de solução de hidróxido de sódio a 8,5% (p/v) e 40 mL de éter etílico isento de peróxidos. Agitar, vigorosamente, durante 10 minutos. Separar a fase etérea e agitar a fase básica por um minuto com três porções de 15 mL de éter etílico isento de peróxidos. Reunir as fases etéreas, dessecar com 10 g de sulfato de sódio anidro e filtrar. Lavar o resíduo de sulfato de sódio duas vezes com 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Reunir as fases etéreas e evaporar à secura. Dessecar o resíduo (ésteres) entre 100 °C e 105 ºC, durante 30 minutos, resfriar em dessecador e pesar.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BARBATIMÃO, casca
Barbadetimani cortex

A droga vegetal consiste de cascas caulinares secas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville [syn. *Stryphnodendron barbatimam* (Vell.) Mart.], contendo, no mínimo, 8% de taninos totais, expressos em pirogalol ($C_6H_6O_3$; 126,11), dos quais, no mínimo, 0,2 mg/g equivalem a ácido gálico ($C_7H_6O_5$; 170,12) e 0,3 mg/g correspondem a galocatequina ($C_{15}H_{14}O_7$; 306,27), em relação à droga seca. Entende-se por casca do caule todos os tecidos situados externamente ao câmbio vascular desse órgão.

CARACTERÍSTICAS

Cascas secas inodoras.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares, quando secas, apresentam-se em fragmentos arqueados, com dimensões e formatos muito variados. Em secção transversal apresentam, em média, 6 mm de espessura quando secas, e 10 mm a 12 mm de espessura quando hidratadas, tendo a região floemática, mais interna, coloração marrom mais clara, quando comparada à região do súber, mais externa e de intensa coloração marrom-avermelhada. Nos caules jovens o súber apresenta-se, em vista frontal, de coloração escura e aspecto granuloso, homogêneo, portando fissuras estreitas e profundas no sentido transversal. Nas porções caulinares mais velhas, apresenta coloração marrom-escura ou marrom-acinzentada, quando da presença de líquens, sempre com profundas fendas, predominantes no sentido transversal, ou com cinturas consecutivas, desprendendo-se em placas de dimensões e formatos variados, irregulares, deixando depressões profundas no local. A fratura da casca é do tipo granulosa em relação à região do súber e fibrosa, estriada longitudinalmente na região floemática.

B. Descrição microscópica

A porção externa da casca apresenta súber com 20 a 30 estratos de células tabulares enfileirados radialmente, com paredes delgadas e conteúdo marrom, seguidos por muitos estratos de células parenquimáticas de formato isodiamétrico ou pouco alongado periclinalmente, também com paredes delgadas. A maioria dessas células possui conteúdo marrom-avermelhado, que não se descora facilmente com hipoclorito de sódio a 30% (p/v) e não altera a cor na presença do cloreto férrico SR. Nessa porção parenquimática ocorrem células pétreas (maioria) e macroesclereídes, posicionados em diversos planos, em grupos de vários elementos ou isolados, com paredes muito espessadas com lignina, apresentando lamelações evidentes e pontoações simples, por vezes ramificadas. Nas porções mais externas do súber, tanto as células parenquimáticas quanto os esclereídes podem ser visualizados, compactados e deformados pela ação mecânica nos tecidos internos. Na região do floema ocorrem conjuntos de poucos elementos de fibras gelatinosas, relativamente estreitas, sempre com idioblastos adjuntos, contendo um grande cristal de oxalato de cálcio, prismático, com variado número de lados, inteiro ou superficialmente erodido. Os conjuntos de fibras, quando observados em secções longitudinais, acompanham os raios parenquimáticos do floema, os quais são, em geral, unisseriados, mas tornam-se bi-multisseriados nas porções mais externas. Os elementos de tubo crivado apresentam placas crivadas compostas, estando colapsados nas regiões mais externas do floema. Células pétreas isoladas, semelhantes às do súber, e grãos de amido esféricos são abundantes

no tecido parenquimático do floema. As células ao redor dos raios parenquimáticos reagem positivamente à presença do cloreto férrico SR, adquirindo coloração verde-escura. Ainda na região floemática podem ser encontradas células volumosas de conteúdo hialino, dispostas em conjuntos de cinco a sete elementos.

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 células tabulares; grupos de células parenquimáticas com conteúdo marrom-avermelhado, justapostas com células pétreas ou macroesclereídes, em grupos ou isolados, de paredes fortemente lignificadas, com pontoações simples, por vezes ramificadas; conjuntos de fibras com idioblastos cristalíferos adjuntos, delimitando fragmentos de raios parenquimáticos do floema; células parenquimáticas com grãos de amido esféricos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (75:5:5).

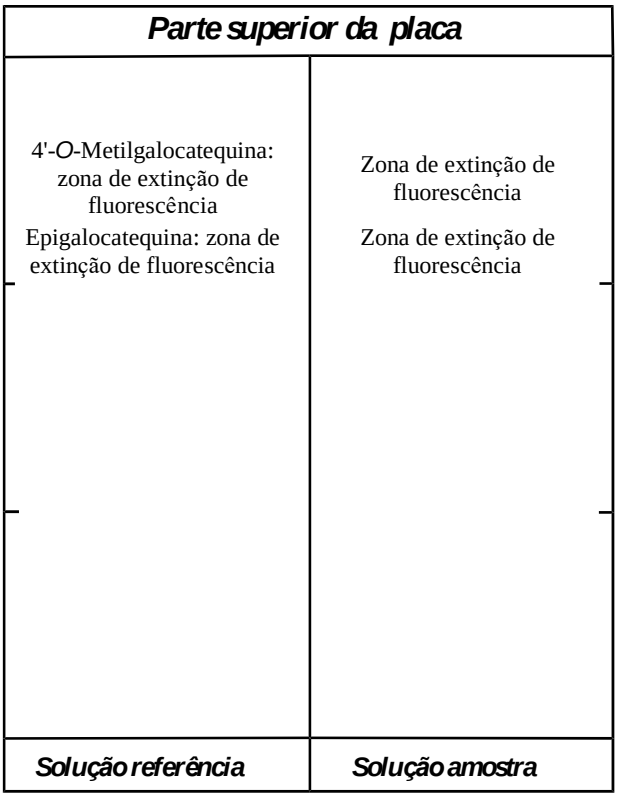
Solução amostra: extrair, por turbólise, cerca de 10 g da droga vegetal pulverizada, pesada com exatidão, em 90 mL de mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de cinco minutos para que a temperatura não exceda 40 °C. Filtrar, eliminar a acetona em rotaevaporador sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 20 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso à 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, suspendendo-o em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de epigalocatequina e dissolver em 1 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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 3 µL da *Solução referência (1)* e 3 µL da *Solução referência (2)*. 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.



TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 14,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2,0%.

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). No máximo 3,0%.

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 0,750 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, volumetricamente, 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, 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 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, 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 o teor de água determinado;
m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

Ácido gálico e galocatequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta ajustado em comprimento de onda de 210 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 0,8 mL/minuto.

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

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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: extrair, por turbólise, 10 g da droga vegetal pulverizada (250 μm) **(5.2.11)** em 90 mL da mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de cinco minutos para que a temperatura não exceda a 40 °C. Filtrar em algodão e eliminar a acetona em rotaevaporador sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 20 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso em temperatura de -18 °C durante 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as fases orgânicas e filtrar em papel de filtro com 5 g de sulfato de sódio anidro. Evaporar a fração orgânica obtida em rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo. Suspender o resíduo com 5 mL da mistura álcool metílico e água (2:8). Extrair em cartucho de extração em fase sólida, empacotado com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 mm, 70 Å), previamente acondicionado com 10 mL da mistura de álcool metílico e água (2:8), em balão volumétrico de 100 mL. Eluir, em seguida, 10 mL da mistura álcool metílico e água (2:8) para o mesmo balão e completar o volume (S_1) com a mistura álcool metílico e água (2:8). Transferir volumetricamente 5 mL da S_1 para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a mistura álcool metílico e água (1:1) e homogeneizar (S_2). Filtrar a solução S_2 em unidade filtrante 0,45 μm.

Solução referência (1): dissolver quantidade exatamente pesada de galocatequina SQR em mistura de álcool metílico e água (1:1), para obter solução a 0,152 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μm.

Solução referência (2): dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico SQR em mistura de álcool metílico e água (1:1), para obter solução a 0,100 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μm.

Soluções para curva analítica (1): diluir uma alíquota de 600 μL da *Solução referência (1)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura álcool metílico e água (1:1). Proceder a diluições para obter concentrações de 1,14 mg/ mL, 2,28 mg/mL, 4,56 mg/mL, 9,12 mg/mL e 18,24 mg/mL.

Soluções para curva analítica (2): diluir uma alíquota de 800 μL da *Solução referência (2)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura álcool metílico e água (1:1). Proceder a diluições para obter concentrações de 2 μg/mL, 4 μg/mL, 8 μg/mL, 14 μg/mL e 16 μg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μL das *Soluções para curva analítica (1)*, 20 μL das *Soluções para curva analítica (2)* e 20 μL da *Solução amostra.* Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo para ácido gálico e galocatequina é cerca de 8,4 e 10,8 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de galocatequina, em mg/g, segundo a expressão:

$$T = \frac{C \times 500}{m_a \times 1000}$$

em que,

T = teor de ácido gálico ou de galocatequina em mg/g;
C = concentração de ácido gálico ou de galocatequina em μg/mL em S_2, determinada a partir das equações das retas obtidas, considerando a pureza da substância de referência;
500 = fator de diluição;
1000 = valor de conversão de μg para mg;
m_a = 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.

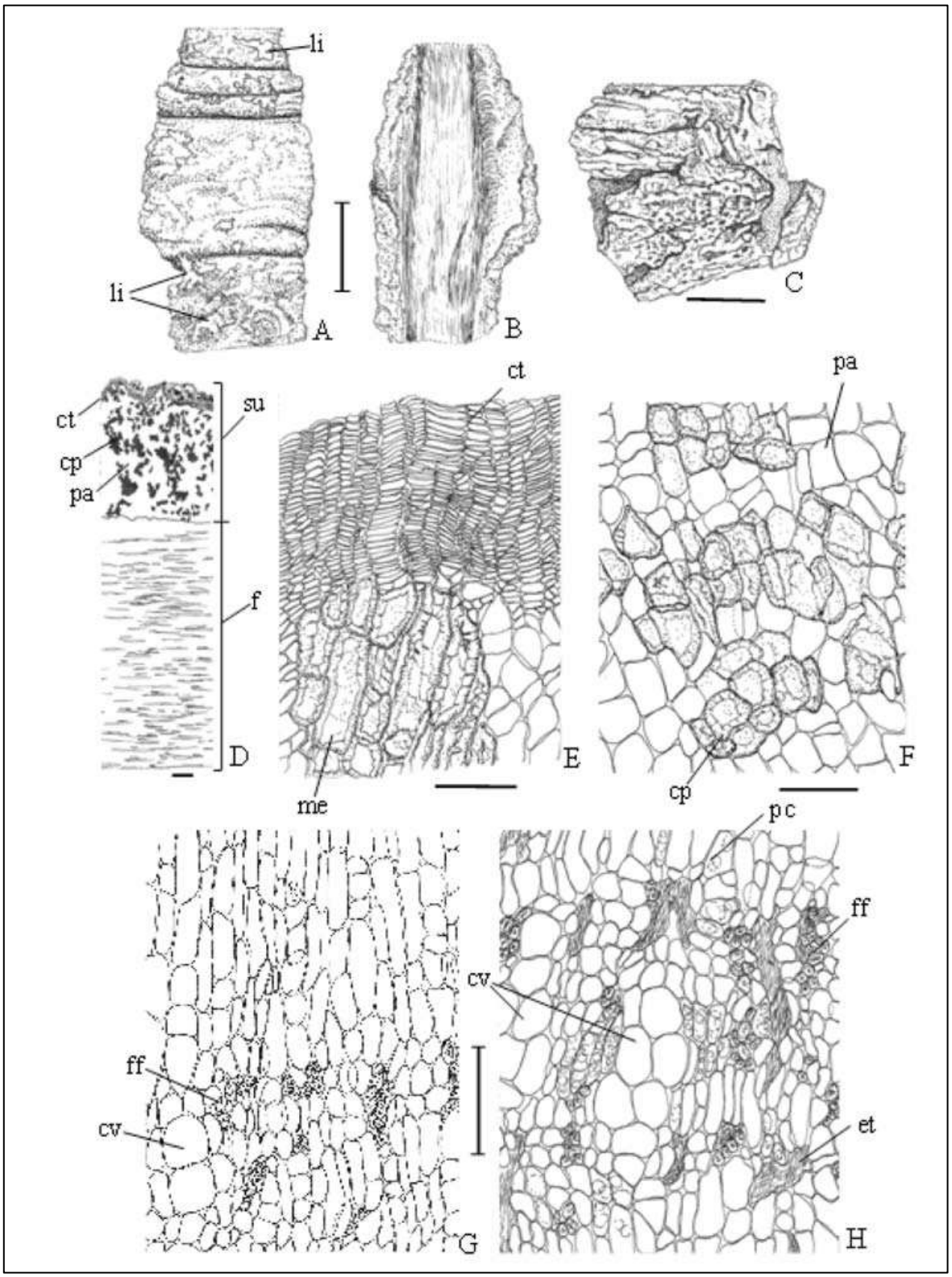


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

As escalas correspondem em **A**, **B** e **C** a 1 cm; em **D** a 2 mm e em **E**, **F**, **G** e **H** a 100 μm.

A e **B** – aspecto parcial da superfície externa e interna da casca de ramo mais novo, respectivamente: líquens (li). **C** – aspecto parcial da superfície externa de ramo mais velho. **D** – diagrama da distribuição dos tecidos da casca: células tabulares (ct), célula pétrea (cp); parênquima (pa); súber (su); floema (f). **E** e **F** – detalhes parciais da região do súber, em secções transversais: células tabulares (ct); macroesclereídes (me); parênquima (pa); célula pétrea (cp). **G** e **H** – detalhes parciais da região do floema, em secções transversais: fibras do floema (ff); células volumosas (cv); placa crivada (pc); elemento de tubo crivado obliterado (et).

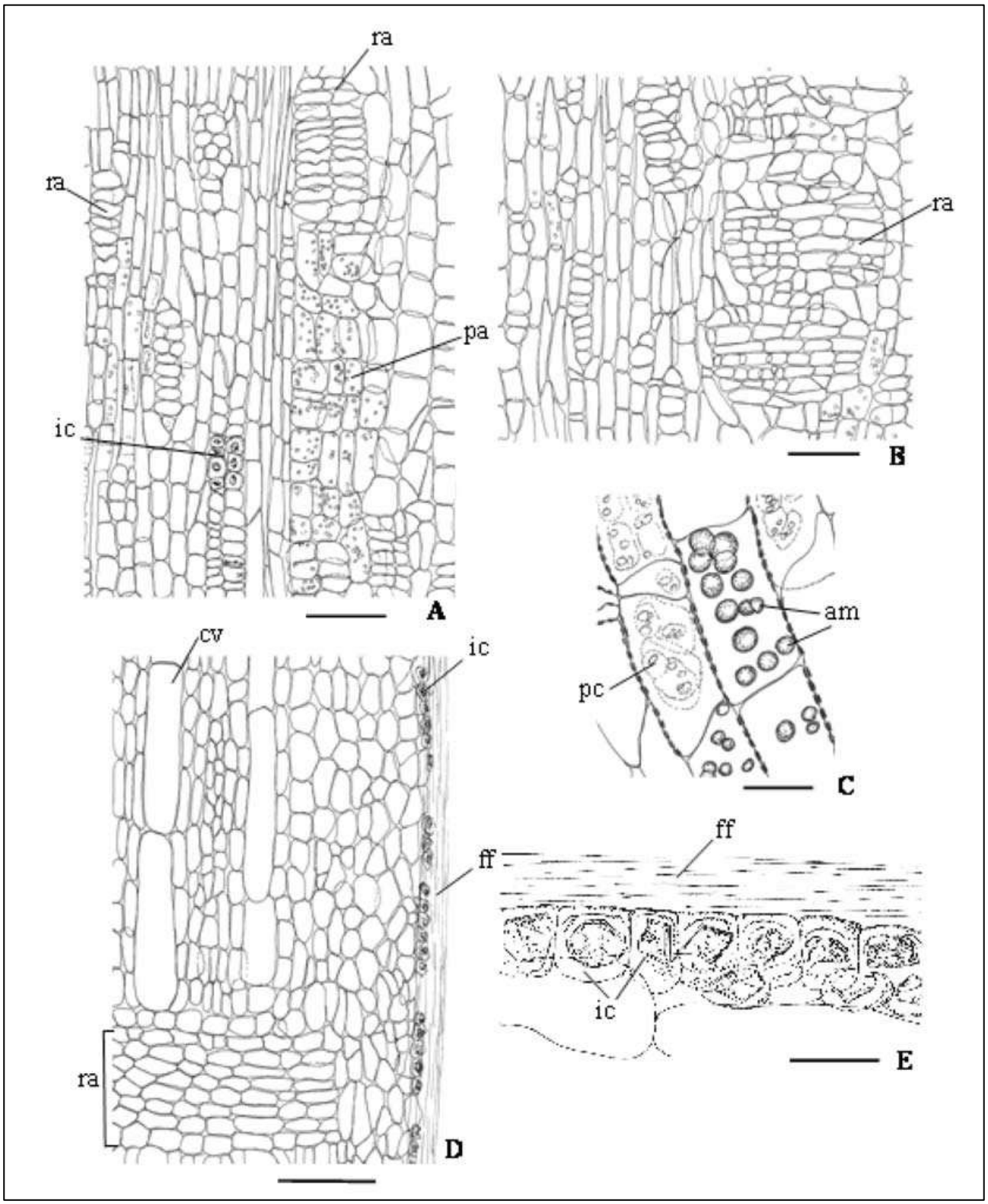


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

As escalas correspondem em **A**, **B** e **D** a 100 μm; em **C** e **E** a 25 μm.

A e **B** – detalhes parciais de floema, em secções longitudinais tangenciais: raio parenquimático (ra); célula parenquimática (pa); idioblasto cristalífero (ic). C – detalhe parcial do parênquima floemático com grãos de amido: grãos de amido (am); placa crivada (pc). **D** – detalhe parcial do floema em secção longitudinal radial: célula volumosa (cv); idioblasto cristalífero (ic); fibras do floema (ff); raio parenquimático (ra). **E** – detalhe dos idioblastos cristalíferos do floema: fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic).

BAUNILHA, fruto
Vanillae fructus

A droga vegetal consiste de frutos imaturos e secos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, contendo, no mínimo, 12,0% de extrato hidroalcoólico seco.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor agradável e floral que lembra a vanilina que, no entanto, é bem mais sutil e encorpado que a substância isolada.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Os frutos são cápsulas plurispérmicas, derivadas de ovário súpero, tricarpelar e unilocular. O formato do fruto, em secção transversal, é variável em função do modo de armazenamento; o fruto não comprimido possui contorno triangular, em secção transversal, é castanho escuro, apresenta estrias longitudinais, é flexível e mede de 20 a 25 cm de comprimento e 1 a 1,5 cm de diâmetro em sua região mediana.

B. Descrição microscópica

O pericarpo, de maneira geral, possui exocarpo com uma única camada celular, mesocarpo multicelular e endocarpo com uma única camada celular especializada. Idioblastos com ráfides orientadas longitudinalmente ao pericarpo são comuns; cristais prismáticos também são observados. O exocarpo possui células alongadas tangencialmente, cujas paredes periclinais externas e internas são espessas, sendo as externas cutinizadas; as células geralmente acumulam compostos fenólicos. O exocarpo é estomatífero e glabro. O mesocarpo externo apresenta duas a quatro camadas similares a um colênquima anguloso; o mesocarpo médio possui células volumosas, com grande acúmulo de compostos fenólicos. Nesse tecido ocorrem feixes vasculares colaterais em grupos de dois ou três, usualmente mais calibrosos do que os feixes individuais de pequeno calibre e feixes envoltos por uma bainha esclerenquimática com duas a cinco camadas celulares de espessura; o esclerênquima é composto por células volumosas de paredes lignificadas e pouco espessadas; o mesocarpo interno possui células achatadas, contendo compostos fenólicos. O endocarpo é diferenciado em um estrato densamente piloso; as células possuem paredes delgadas e pécticas, com citoplasma denso e com aspecto secretor. Em secção transversal é possível distinguir três regiões placentárias, com placenta profusamente ramificada, onde em suas terminações se inserem as sementes. As sementes, de coloração negra ou castanho-escura possuem testa esclerenquimática; a testa seminal é composta por uma única camada de braquiesclereídes. O tegumento interno é comprimido e o endosperma possui células volumosas com reservas.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos na forma de grumos; cristais prismáticos e esclereídes; fragmentos com células do exocarpo; fibras em grupos de dois ou três elementos ou isoladas; elementos de vaso agrupados ou isolados; reforços de lignina e pontoações são observados. As sementes permanecem praticamente intactas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

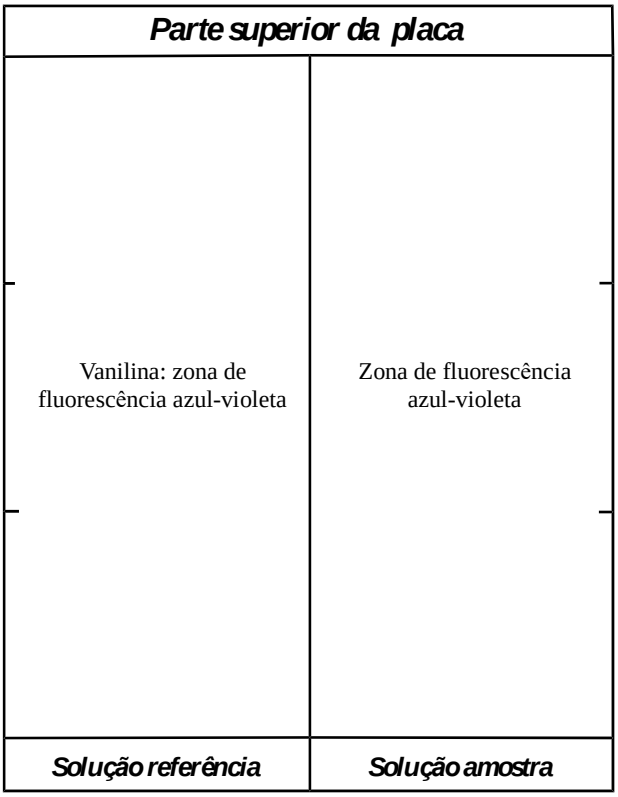
Fase móvel: cloreto de metileno e acetona (95:5).

Solução amostra: utilizar o extrato hidroalcoólico obtido em *Doseamento*.

Solução referência: dissolver 1 mg de vanilina em 10 mL de álcool etílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca 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* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.



TESTES

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). 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

Substâncias extraíveis

Determinar o teor de substâncias extraíveis por meio do cálculo do rendimento do extrato hidroalcoólico. Pesar, com exatidão, cerca de 2 g de baunilha, previamente cortada em pequenos fragmentos ou triturada a pó grosso. Transferir o pó para um erlenmeyer, com tampa esmerilhada, e adicionar 70 mL de álcool etílico diluído (solução preparada com 263 mL de álcool etílico em 250 mL de água destilada), tampar bem o recipiente e agitar por duas horas em agitador mecânico, ou deixar em contato, durante uma noite, e agitar, frequentemente, por mais oito horas. Decantar a camada líquida e filtrar, recolhendo o filtrado em um balão volumétrico de 100 mL. Lavar o frasco e o resíduo quatro vezes, sucessivamente, com porções de 8 mL da solução de álcool etílico diluído. Filtrar os líquidos de lavagem, no mesmo filtro, e juntar ao filtrado obtido anteriormente. Com quantidade suficiente de álcool etílico diluído, completar o volume para 100 mL, homogeneizar e evaporar em banho-maria 50 mL, exatamente medidos, em uma cápsula de porcelana tarada. Dessecar o resíduo em estufa a 105 °C por quatro horas. Resfriar a cápsula em dessecador e pesar. O peso do resíduo representa o extrato hidroalcoólico seco de 1 g da droga.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

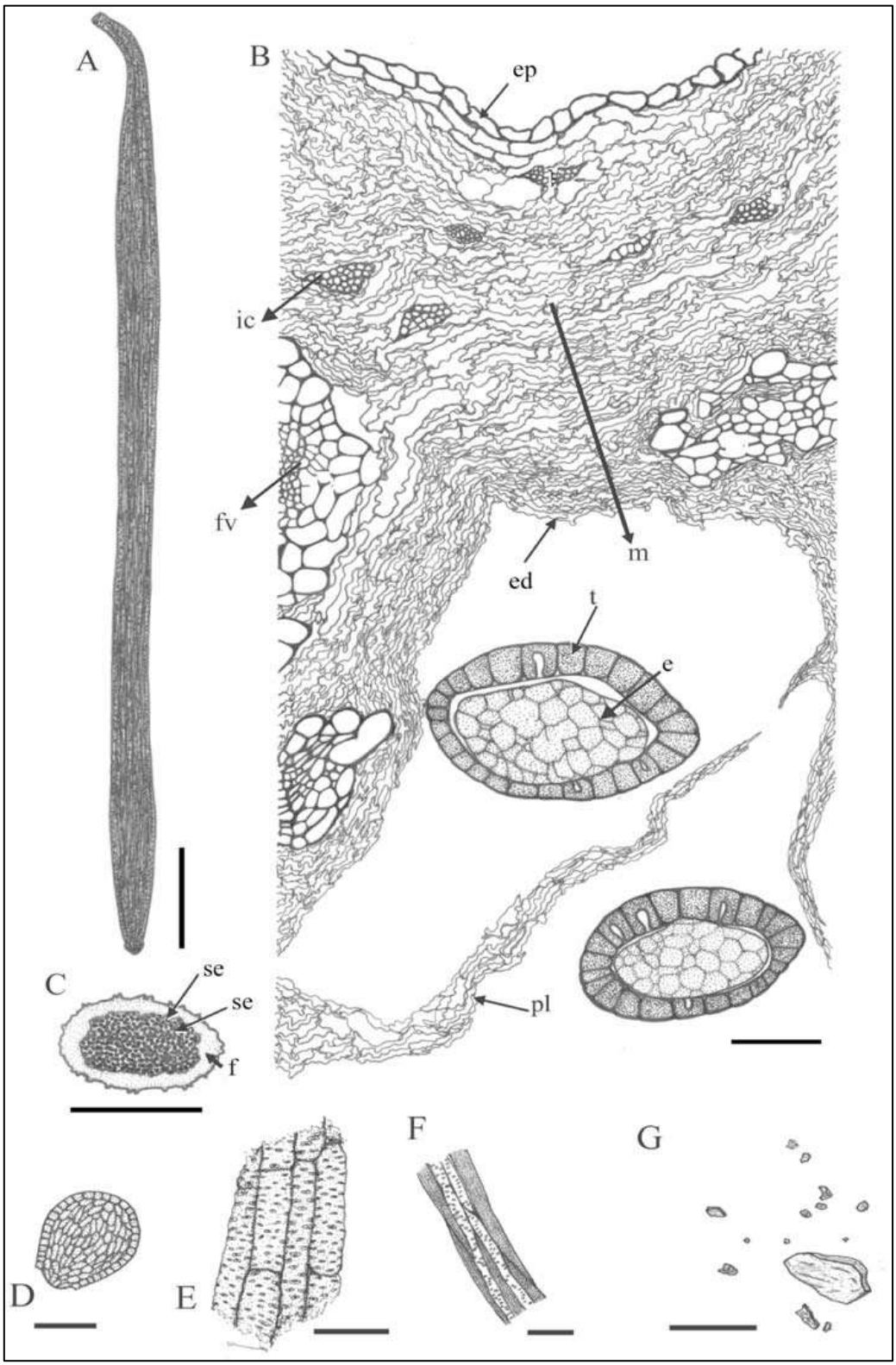


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews

As escalas correspondem em: **A** a 20 mm; em **B** a 5 mm; em **C** a 100 µm; em **D** a 160 µm; em **E** a 74 µm; em **F** a 9 µm; em **G** a 37 µm.

A – representação esquemática da cápsula, em vista lateral. **B** – representação da histologia do pericarpo e sementes, em secção transversal: endocarpo (ed); endosperma (e); exocarpo (ep); idioblastos cristalíferos com ráfides (ic); feixe vascular (fv); mesocarpo (m); tecido placentário (pl); tegumento da semente (t). **C** – representação esquemática da cápsula em secção transversal: pericarpo (f); semente (se). **D** – semente em vista lateral. **E** – fragmento de elementos de vaso do xilema. **F** – fragmento de grupo de fibras da bainha vascular. **G** – cristais de oxalato de cálcio.

BELADONA, folha
Belladonnae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas, íntegras ou rasuradas, de *Atropa belladonna* L., contendo, no mínimo, 0,25% de atropina ($C_{17}H_{23}NO_3$, 289,37).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As folhas são elípticas, oval-lanceoladas a largamente ovaladas, inteiras, de ápice acuminado, base atenuada, simétrica e algo decurrente, e bordo inteiro. Medem 5 a 25 cm de comprimento e 3 a 12 cm de largura, com pecíolos de 0,5 a 4 cm de comprimento. A coloração é verde a castanho-esverdeado, sendo mais escura na face adaxial. As folhas secas são enrugadas, friáveis e delgadas. As folhas jovens são mais pubescentes que as adultas ao longo das nervuras e do pecíolo. A nervação é peninérvea, sendo que as nervuras secundárias partem da nervura principal em um ângulo de aproximadamente 60° e se anastomosam próximo ao bordo. A superfície da lâmina é seca e áspera ao tato, devido à presença de células com conteúdo microcristalino de oxalato de cálcio no mesofilo. Essas células aparecem como minúsculos pontos brilhantes quando a superfície é iluminada e escuros por transparência.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é anfiestomática e de simetria dorsiventral. A epiderme, em vista frontal, mostra células de paredes anticlinais ondeadas e com cutícula finamente estriada, em ambas as faces. Tricomas tectores e glandulares são numerosos por toda a lâmina. Os tricomas tectores têm de duas a cinco células, são unisseriados e cônicos, de paredes lisas e delgadas; os tricomas glandulares possuem pedicelo pluricelular, composto por duas a quatro células, com célula terminal claviforme, ou possuem pedicelo pluricelular e cabeça pluricelular, formada por quatro a sete células, de aspecto ovoide a piriforme. Estômatos anisocíticos são mais frequentes na epiderme abaxial. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e a cutícula é delgada. O mesofilo é composto por parênquima paliçádico uniestratificado e parênquima esponjoso com grandes idioblastos contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio e areia microcristalina. A nervura principal é proeminente em ambas as faces e apresenta feixes vasculares bicolaterais em arco aberto, sendo o floema intra-axilar descontínuo. Colênquima angular ocorre abaixo da epiderme, em ambas as faces.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde escura; fragmentos de epiderme com células de paredes anticlinais ondeadas e cutícula com estrias; fragmentos do mesofilo com parênquima paliçádico uniestratificado; fragmentos da epiderme abaxial, mostrando estômatos anisocíticos e raros tricomas tectores e glandulares; fragmentos do parênquima, contendo idioblastos cristalíferos; cristais prismáticos isolados como os descritos; tricomas glandulares, como os descritos, isolados, fragmentados ou com restos de epiderme; tricomas tectores isolados ou seus fragmentos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e dietilamina (7:2:1).

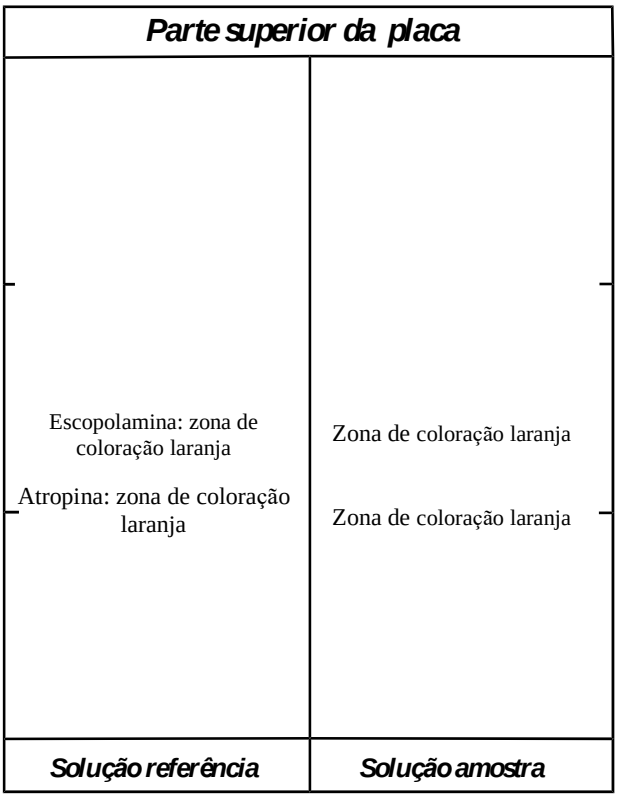
Solução amostra: pesar cerca de 1,5 g da droga vegetal pulverizada e adicionar 15 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*. Agitar a mistura por dois minutos em agitador magnético, filtrar em papel filtro e transferir para um funil de separação de 125 mL. Adicionar 7,5 mL de água e alcalinizar o extrato com hidróxido de amônio até pH 10. Extrair os alcaloides com três porções de 10 mL de cloreto de metileno. Reunir as fases orgânicas e secar com sulfato de sódio anidro. Filtrar o extrato de alcaloides em papel filtro para cápsula de porcelana e evaporar o solvente até secura em banho-maria em temperatura inferior à 40 °C. Solubilizar o resíduo em 0,5 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): preparar uma solução a 10 mg/mL de atropina em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução a 4 mg/mL de bromidrato de escopolamina em álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, da *Solução referência (1)* e da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca, deixar secar ao ar durante 15 minutos. A seguir, secar, em estufa, a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Deixar esfriar e nebulizar com solução de iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR até o aparecimento de manchas alaranjadas.

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



TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0% de caules da espécie com um diâmetro superior a 5 mm. Não deve conter fragmentos de folhas com ráfides no mesofilo (*Phytolacca americana* L.), nem

apresentar camadas de células com maclas de oxalato de cálcio ao longo das nervuras (*Ailanthus altissima* Swingle).

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 16,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 4,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* 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.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). 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 octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

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

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
0-15	95→0	5→100	gradiente linear
15-20	0	100	isocrática

Entre as corridas é necessário realizar um equilíbrio de 10 minutos com a mistura do *Eluente (A)* e *(2)* (95:5). Esse equilíbrio deve ser realizado entre as corridas e não inserido no gradiente de *Fase móvel* descrito.

Solução amostra: pesar, com exatidão, em erlenmeyer de 50 mL, cerca de 0,25 g da droga vegetal pulverizada (180 µm) **(5.2.11)** e adicionar 15 mL de álcool metílico. Tampar o frasco com filme plástico e levar ao banho de ultrassom por 60 minutos. Filtrar o extrato bruto metanólico em papel de filtro para balão de fundo redondo de 50 mL. Lavar o erlenmeyer com duas porções de 1 mL de álcool metílico. Eliminar o solvente em rotaevaporador em temperatura inferior à 40 ºC. Transferir o resíduo do balão para funil de separação de 250 mL, utilizando duas alíquotas de 10 mL e uma alíquota de 5 mL de ácido clorídrico a 5% (v/v), com auxílio de ultrassom para facilitar a solubilização do resíduo. Lavar o extrato aquoso ácido com três porções de 20 mL de cloreto de metileno, usando os primeiros 20 mL para lavar 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% (v/v) até pH 10. Extrair os alcaloides com cinco porções de 20 mL de cloreto de metileno. Reunir as fases orgânicas e secar com 15 g de sulfato de sódio anidro. Após, filtrar em papel de filtro para uma cápsula de porcelana e lavar o sulfato de sódio do papel de filtro com 2 mL de cloreto de metileno. Evaporar o solvente até secura em banho-maria em temperatura inferior à 40 °C. Solubilizar o resíduo da cápsula de porcelana contendo os alcaloides com álcool metílico e transferir para balão volumétrico de 5 mL. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 12,5 mg de atropina em álcool metílico, transferir para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir, usando uma pipeta, 1,25 mL dessa solução para um balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*, em triplicata. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção para a atropina é de cerca de sete minutos e quarenta segundos. Calcular o teor de atropina, considerando a média dos resultados, em percentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{C_r \times A_a}{A_{rp} \times m} \times 5 \times 100$$

em que,

TA = teor de atropina % (p/p);
C_r = concentração da *Solução referência* de atropina, em g/mL, considerando pureza da substância de referência;
A_a = área sob o pico correspondente à atropina no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;
A_r = área sob pico correspondente à atropina no cromatograma obtido com a *Solução referência*;
m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;
5 = Fator de diluição da amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

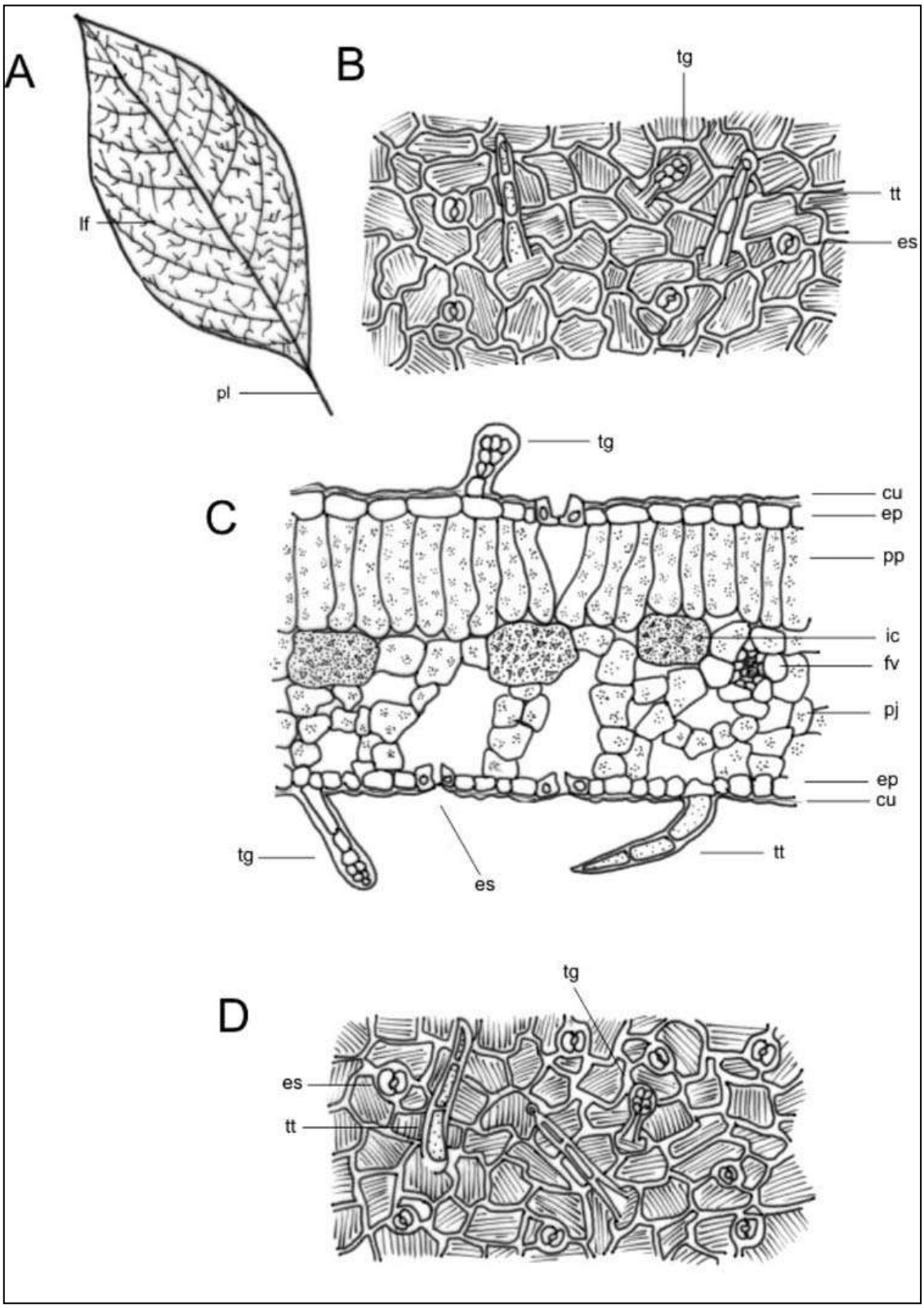


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Atropa belladonna* L.**

A escala corresponde em **A** 5 mm; e em **B**, **C** e **D** a 20 µm.

A – Representação esquemática da folha: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). **B –** detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial em vista frontal: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt); estômato (es). **C –** detalhe da porção do mesofilo, em secção transversal: tricoma glandular (tg); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); idioblasto contendo microcristais de oxalato de cálcio (ic); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); epiderme (ep); tricoma tector (tt); estômato (es). **D –** detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal: tricoma glandular (tg); estômato (es); tricoma tector (tt).

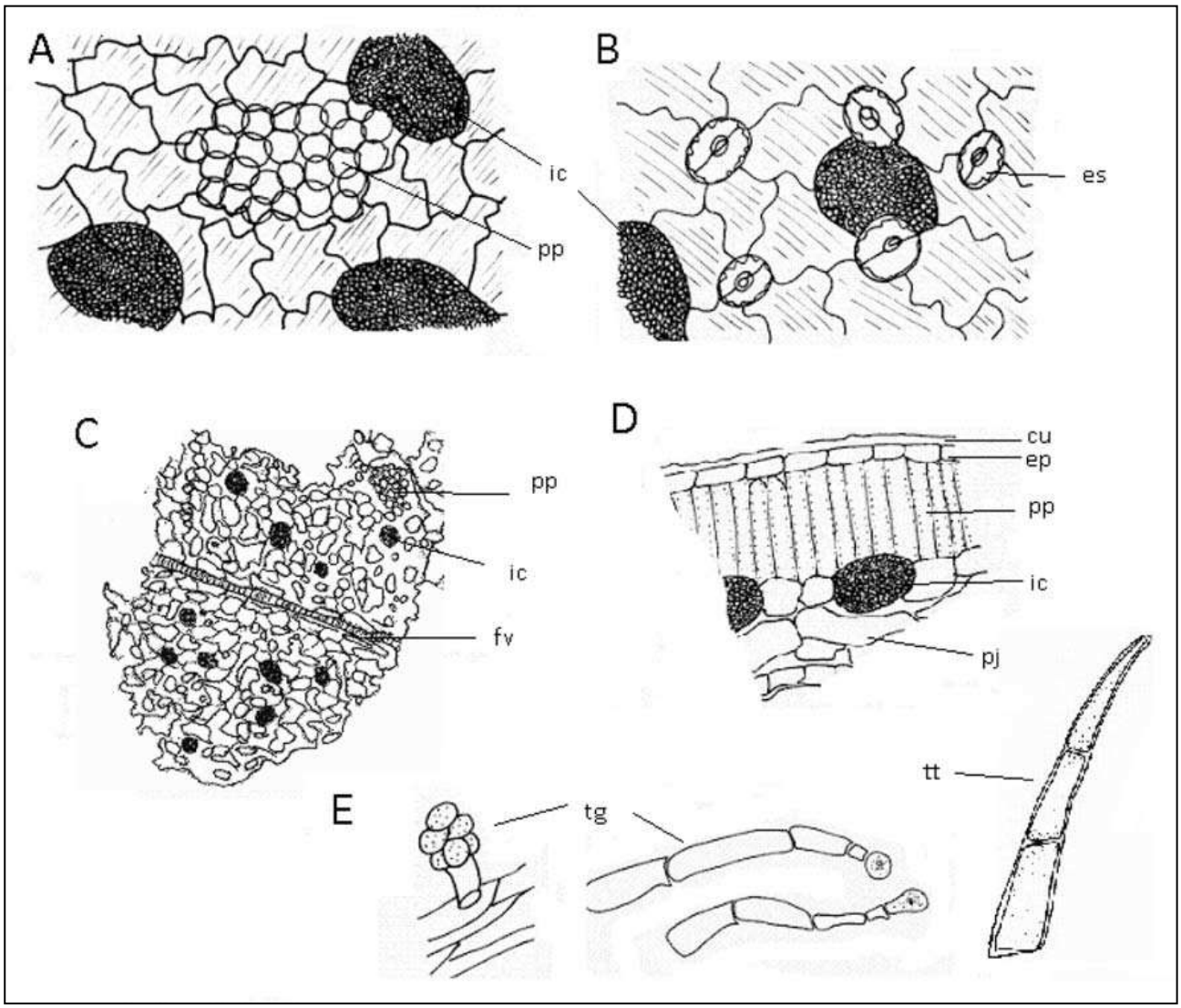


Figura 2 – **Aspectos microscópicos do pó em *Atropa belladonna* L.**

_____

A escala corresponde em **A**, **B** e **D** a 30 µm; em **C** a 100 µm; e em **E** a 20 µm.

A e **C –** fragmentos da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal, mostrando idioblastos cristalíferos por transparência: idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp); feixe vascular (fv). **B –** fragmento da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal, mostrando idioblastos cristalíferos por transparência: idioblasto cristalífero (ic); estômato (es). **D –** fragmento da lâmina foliar, em secção transversal: cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); idioblasto cristalífero (ic); parênquima esponjoso (pj). **E –** tricomas ou suas partes, isolados: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt).

BENJOIM

Benzoe sumatranus

O benjoim consiste de uma resina balsâmica, obtida por incisões no tronco de *Styrax benzoin* Dryand. ou *Styrax parallelloneuron* Perkins, contendo, no mínimo, 25% e no máximo, 50% de ácidos totais, calculados como ácido benzoico ($C_7H_6O_2$, 122,12).

CARACTERÍSTICAS

Apresenta-se sob a forma de fragmentos arredondados ou ovoides, irregulares, de coloração creme-esbranquiçada, que podem estar revestidos de um material resinoso de coloração castanho-acinzentada ou castanho-avermelhada. Os fragmentos são duros e quebradiços, sendo a superfície de fratura rugosa e irregular. Odor suave e balsâmico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

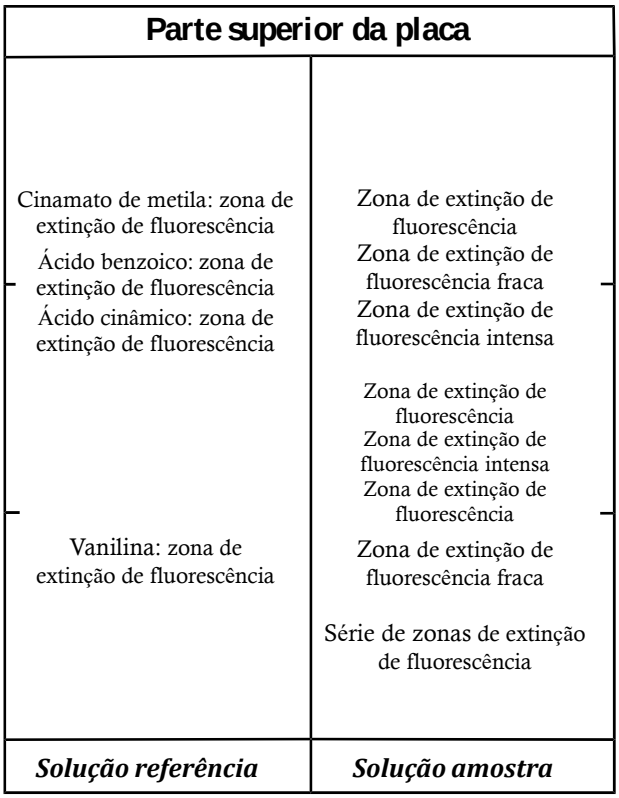
Fase móvel: hexano, éter isopropílico e ácido acético glacial (60:40:10).

Solução amostra: a 0,2 g da amostra, finamente pulverizada, adicionar 5 mL de álcool etílico e levar ao banho de ultrassom durante dois minutos. Centrifugar e utilizar a solução sobrenadante.

Solução referência: dissolver 20 mg de ácido benzoico, 10 mg de ácido cinâmico, 4 mg de vanilina e 20 mg de cinamato de metila em 10 mL de álcool etílico.

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.

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



TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico, dissulfeto de carbono e xileno.

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

Fase estacionária: óxido de alumínio G (0,25 mm).

Fase móvel: éter etílico e éter de petróleo (60:40).

Solução amostra: aquecer 0,2 g da amostra pulverizada com 10 mL de álcool etílico a 90% (v/v). Centrifugar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com anisaldeído SR1 e aquecer em estufa entre 100 ºC e 105 ºC durante cinco minutos.

Resultados: o cromatograma não deve apresentar nenhuma mancha nítida com Rf entre 0,4 e 1,0.

Styrax tonkinensis. Proceder conforme descrito no teste **E**. de *Identificação*. A *Solução amostra* apresenta duas manchas de fraca intensidade e não apresenta manchas intensas, respectivamente na mesma posição das manchas escuras correspondentes ao ácido benzoico e à vanilina no cromatograma obtido com a *Solução referência*.

Colofônia. Transferir 1 g da amostra, adicionar 10 mL de xileno e colocar em ultrassom durante um minuto. Filtrar. Adicionar ao filtrado 10 mL de acetato de cobre 1% (p/v). Agitar bem e deixar separar as fases. A camada de xileno não deve apresentar coloração verde.

Limite de substâncias insolúveis em álcool etílico. Pesar 2,0 g da amostra pulverizada e adicionar 25 mL de álcool etílico a 90% (v/v). Aquecer à ebulição até dissolução quase completa. Filtrar em filtro de vidro poroso, previamente tarado, lavar três vezes com 5 mL de álcool etílico a 90% (v/v) a quente. Aquecer o funil de vidro e seu conteúdo em estufa entre 100 ºC e 105 ºC durante duas horas. Resfriar em dessecador e pesar. No máximo 25,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 5,0%. Determinar em 2 g da amostra grosseiramente pulverizada, a pressão reduzida, durante quatro horas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2,0%.

DOSEAMENTO

Em balão de boca esmerilhada de 250 mL, introduzir 0,75 g da amostra finamente pulverizada e 15 mL 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. Titular o excesso de hidróxido de potássio com ácido clorídrico 0,5 *M* SV. Determinar o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de potássio 0,5 *M* em álcool etílico SV equivale a 61,050 mg de ácido benzoico ($C_7H_6O_2$).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BOLDO, folha
Boldus folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Peumus boldus* Molina, contendo, no mínimo, 0,1% de alcaloides totais expressos em boldina ($C_{19}H_{21}NO_4$ 327,37).

NOMES POPULARES

Boldo-do-chile.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor aromático característico, canforáceo e levemente acre, que se acentua com o esmagamento.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folha simples, inteira, elíptica, elíptico-ovalada, elíptico-obovada ou obovada, de ápice obtuso, retuso ou agudo e base arredondada, obtusa ou cuneada, ápice e base simétricos ou assimétricos, margem ligeiramente revoluta, lâmina coriácea, quebradiça, verde-acinzentada a cinzento-prateada, pontuações levemente translúcidas, correspondentes a cavidades secretoras, visíveis a olho nu ou com lente de aumento de seis vezes, de 1,2 a 7 cm de comprimento e 0,6 a 5 cm de largura; lâmina pilosa, com tricomas estrelados visíveis com lente de aumento, comumente caducos na face adaxial, sendo essa face áspera ao tato devido às proeminências da base dos tricomas; venação camptódroma-broquidódroma. Pecíolo curto, piloso, medindo de 1 a 5 mm de comprimento e de 1 a 2 mm de largura, côncavo na face adaxial, com duas pequenas costelas laterais, e convexo na face abaxial, com maior densidade de tricomas nessa face.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, hipoestomática, com estômatos anomocíticos. Em vista frontal apresenta cutícula lisa e epiderme com células poligonais de paredes espessas, ondeadas e com tricomas estrelados; por transparência, são visíveis células secretoras. Em secção transversal, na face adaxial, se observa cutícula espessa, epiderme uniestratificada, com células alongadas e de paredes espessas, seguida de hipoderme, também de paredes espessas, uniestratificada, raramente biestratificada; segue o parênquima paliçádico uniestratificado ou biestratificado, de células colunares, com segunda camada mais frouxa, de células menores e maior concentração de grãos de amido, seguido de um parênquima esponjoso com várias camadas de células e grandes espaços intercelulares; feixes colaterais secundários distribuem-se no mesofilo. Nervura principal, em secção transversal, com cutícula mais espessa, principalmente na face abaxial, onde as células epidérmicas são pequenas e a hipoderme geralmente apresenta duas camadas de células em ambas as faces; o colênquima é angular e mais desenvolvido junto à face abaxial; o sistema vascular é formado por um único feixe colateral, envolvido por endoderme e bainha de fibras muito esclerificadas; podem ocorrer outros dois feixes menores, voltados para a face adaxial, sendo o conjunto envolvido por bainha de fibras. Em toda a lâmina, na hipoderme, colênquima e parênquimas ocorrem células contendo compostos fenólicos; no parênquima há maior concentração de grãos de amido e são frequentes as

células secretoras esféricas, unicelulares, de grande volume e de paredes suberizadas; cristais prismáticos de oxalato de cálcio isolados são encontrados na epiderme e bastonetes pequenos, finos e agrupados nos parênquimas; gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos. O pecíolo, em vista frontal, apresenta cutícula levemente ondulada, epiderme formada por células pequenas, quadrangulares e de paredes anticlinais espessas, muitas contendo compostos fenólicos, e muitos tricomas estrelados, iguais aos da lâmina; várias células secretoras esféricas, de grande volume e com paredes suberizadas são visíveis por transparência. Em secção transversal, o pecíolo possui duas costelas laterais, voltadas para a face adaxial; o sistema vascular está representado por um feixe colateral aberto e central.

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 exige utilização de hidrato de cloral SR. São características: coloração amarelo-esverdeada a amarelo-pardacenta; tricomas estrelados íntegros e isolados ou parte desses, em vista frontal e/ou em vista lateral; porções de epiderme da região do mesofilo, com células de paredes espessas e com campos de pontoação visíveis, em vista frontal; porções de epiderme com estômatos, em vista frontal; porções de epiderme com células de paredes espessas, mostrando a base de tricoma estrelado, em vista frontal; fragmentos de epiderme com porções de nervuras, em vista frontal; porções da epiderme do pecíolo, com células secretoras visíveis por transparência, em vista frontal; porções do mesofilo com células secretoras, em vista frontal; porções do mesofilo com idioblasto cristalífero e célula com compostos fenólicos, em vista frontal; agrupamentos de fibras, em secção longitudinal; fragmentos do sistema vascular com porções de fibras, elementos traqueais, parênquima com porções de fibras, em secção longitudinal; fragmentos da lâmina com porções de epiderme, de hipoderme e de parênquima paliçádico, em secção transversal; fragmentos de epiderme e de hipoderme, em secção transversal; porções de parênquima paliçádico com células secretoras e com células contendo cristais em forma de bastonete, em secção transversal; fragmentos da região do mesofilo, em secção transversal.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

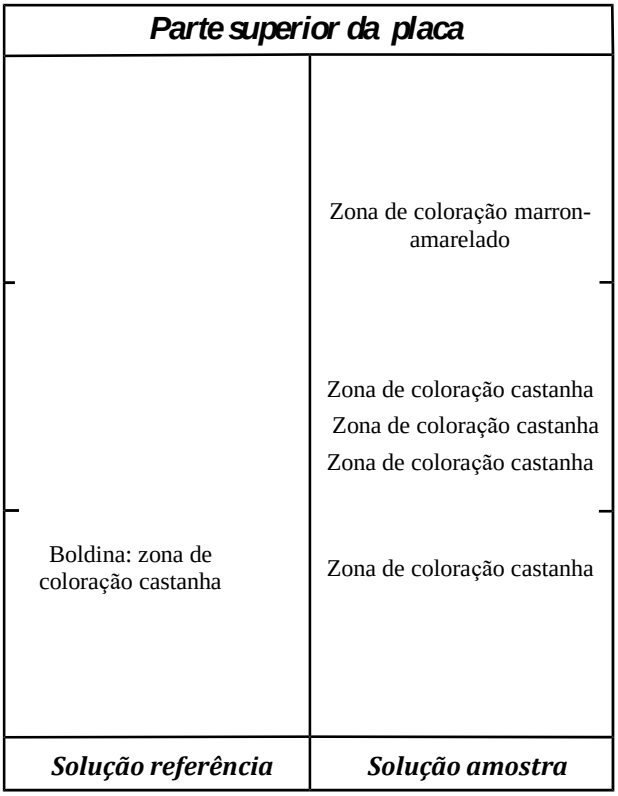
Fase móvel: tolueno, álcool metílico e dietilamina (80:10:10).

Solução amostra: transferir 0,5 g da droga pulverizada para balão de 50 mL, adicionar uma mistura de 1 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 20 mL de água. Homogeneizar. Aquecer em banho de água, sob refluxo, durante 10 minutos. Resfriar e filtrar. Adicionar ao filtrado 2 mL de 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 sob pressão reduzida. Dissolver o resíduo em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência: dissolver 2 mg de boldina em 5 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 40 µL da *Solução amostra* e 20 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 iodobismutato de potássio aquo-acético e deixar secar ao ar durante cinco minutos. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR. Examinar sob à 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.



TESTES

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

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

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). 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

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: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal pulverizada (355 µm) **(5.2.11)** em erlenmeyer, adicionar 50 mL de ácido clorídrico 2 *M* e aquecer em banho-maria a 80 °C durante 30 minutos, com agitação. Filtrar e suspender o resíduo com 50 mL de ácido clorídrico 2 *M* e aquecer em banho-maria a 80 °C por 30 minutos, com agitação. Filtrar e repetir mais uma vez a operação 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 com hidróxido de amônio 6 *M*. Extrair a fase aquosa com uma porção de 100 mL, e duas porções de 50 mL de cloreto de metileno. Combinar as fases orgânicas e evaporar em evaporador rotatório até a secura. Transferir o resíduo para balão volumétrico de 10 mL utilizando a *Fase móvel* como diluente. 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 SQR. Dissolver a quantidade pesada em balão volumétrico de 100 mL utilizando a *Fase móvel* como diluente. 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 a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Adequabilidade do sistema
Resolução entre picos: *Solução amostra*, mínimo de 1,2 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, 1,8 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:

$$\mathrm{TA} = \frac{(\sum \mathrm{A}_1) \times m_\mathrm{r}}{\mathrm{A}_\mathrm{r} \times m_\mathrm{a} \times 100}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em boldina % (p/p);
m_a = massa em gramas da amostra utilizada, considerando o teor de água determinado;
m_r = massa em gramas de boldina utilizada considerando pureza da substância de referência;
ΣA_1 = soma das áreas sob os picos correspondentes aos seis alcaloides identificados no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;
A_r = área sob o pico correspondente à boldina na *Solução referência*.

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. Utilizar 0,5 mL de xileno

no tubo graduado. A droga previamente triturada deve ser turbolizada com 100 mL de água. Transferir imediatamente para o balão e proceder a hidrodestilação a partir de 50 g da droga. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p). Deve conter, no mínimo, 1,5% e, no máximo, 4,0% de óleo volátil, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

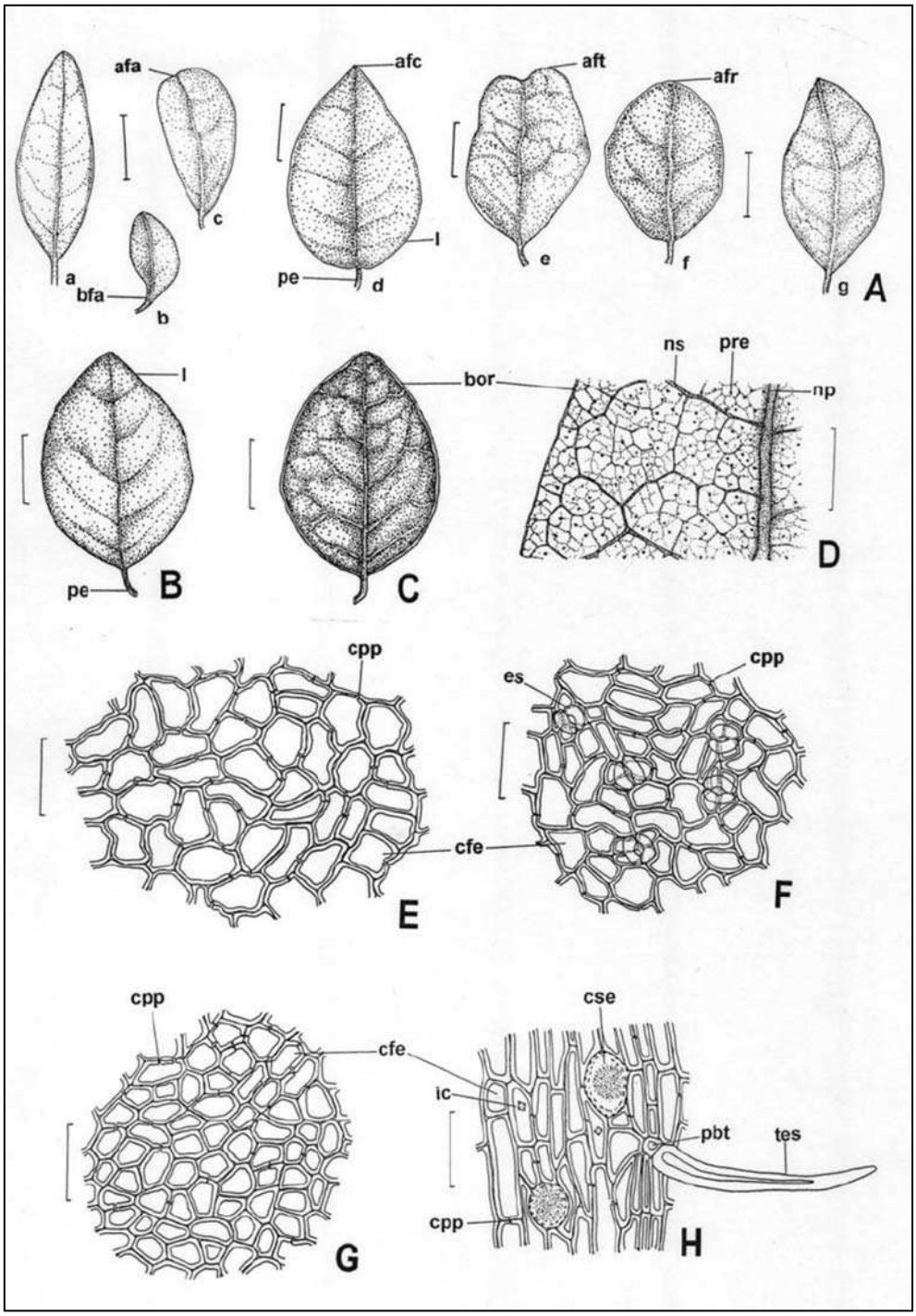


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Peumus boldus* Molina

As escalas correspondem em **A** (**a**, **b**, **c**, **e**, **f** e **g**) a 10 mm, em **A** (**d**) a 15 mm, em **B** e **C** a 14 mm, em **D** a 5 mm; em **E**, **F**, **G** e **H** a 100 μm. **A** – aspecto geral de diferentes formas foliares: base foliar assimétrica (bfa); ápice foliar assimétrico (afa); ápice foliar acuminado (afc); pecíolo (pe); lâmina (l); ápice foliar retuso (aft); ápice foliar arredondado (afr). **B** – aspecto geral da face adaxial foliar: pedículo (pe); lâmina (l). **C** – aspecto geral da face abaxial foliar: bordo (bor). **D** – detalhe de porção da face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal, mostrando parte da nervação da região da nervura principal até o bordo: bordo (bor); nervura secundária (ns); proeminência formada pela região basal do tricoma estrelado (pre); nervura principal (np). **E** – detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial, na região do mesofilo, em vista frontal: campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe). **F –** detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, na região do mesofilo, em vista frontal: estômato (es); campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe). **G** – detalhe de porção da epiderme na região da nervura principal, voltada para a face adaxial, em vista frontal: campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe). **H** – detalhe de porção da epiderme na região da nervura principal, voltada para a face abaxial, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); célula secretora (cse); idioblasto cristalífero (ic); campo primário de pontoação (cpp); porção basal de célula do tricoma partido (pbt); tricoma estrelado (tes).

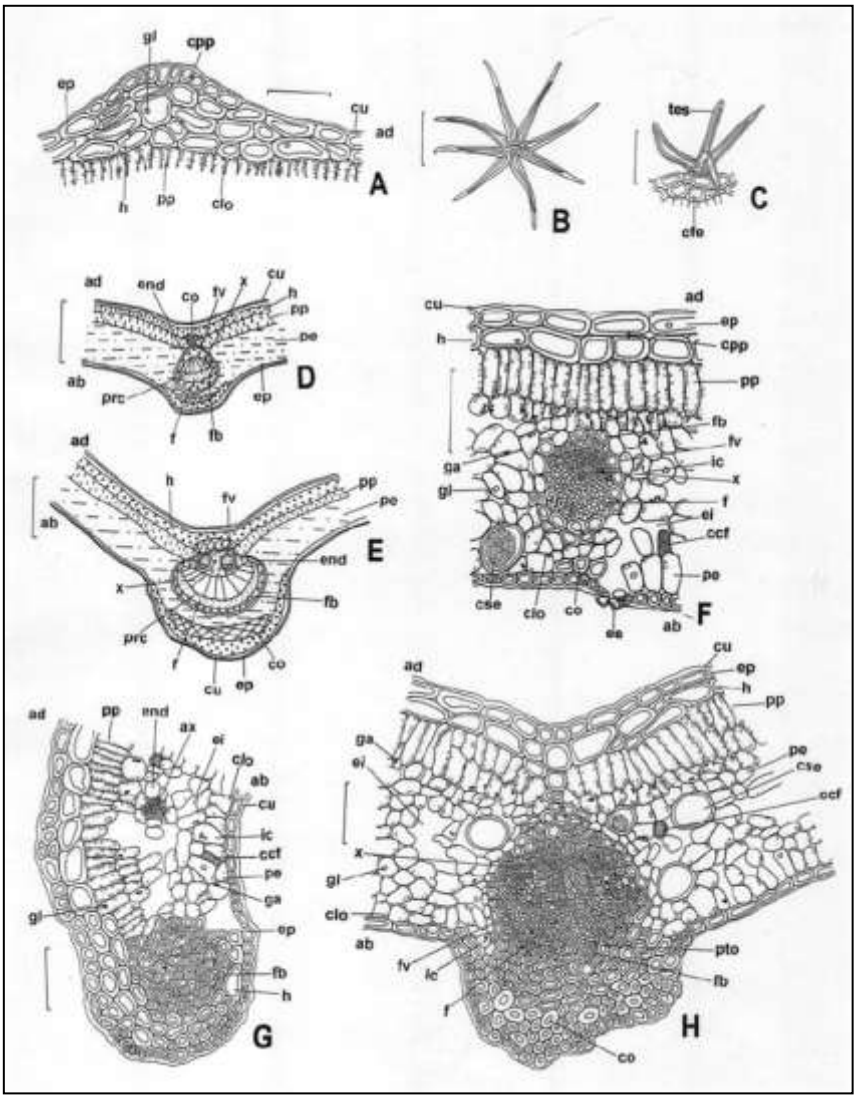


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Peumus boldus* Molina

---

As escalas correspondem em **A**, **C**, **F**, **G** e **E** a 100 μm, em **B** a 400 μm; em **D** e **H** a 400 μm.
A – detalhe de porção da lâmina foliar em secção transversal, junto à face adaxial, mostrando proeminência da região basal do tricoma estrelado: cloroplastídio (clo); gota lipídica (gl); campo primário de pontoação (cpp); cutícula (cu); face adaxial (ad); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); epiderme (ep). **B** – detalhe de porção de tricoma estrelado em vista frontal. **C** – detalhe de tricoma estrelado em vista lateral: tricoma estrelado (tes); célula fundamental da epiderme (cfe). **D** – esquema parcial da região da nervura principal da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando um único feixe vascular: face adaxial (ad); face abaxial (ab); endoderme (end); colênquima (co); feixe vascular (fv); xilema (x); cutícula (cu); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pe); epiderme (ep); fibras (fb); floema (f); procâmbio (prc). **E** – esquema parcial da região da nervura principal da lâmina foliar, em secção transversal,

mostrando três feixes vasculares: face adaxial (ad); face abaxial (ab); hipoderme (h); feixe vascular (fv); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pe); endoderme (end); fibras (fb); colênquima (co); epiderme (ep); cutícula (cu); floema (f); procâmbio (prc); xilema (x). **F** – detalhe de porção da lâmina foliar, na região do mesofilo, em secção transversal, mostrando feixe vascular secundário: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); campo primário de pontoação (cpp); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); fibras (fb); feixe vascular (fv); idioblasto cristalífero (ic); xilema (x); floema (f); grão de amido (ga); gota lipídica (gl); espaço intercelular (ei); célula com compostos fenólicos (ccf); parênquima esponjoso (pe); estômato (es); colênquima (co); cloroplastídio (clo); célula secretora (cse). **G** – detalhe do bordo na região mediana da lâmina foliar, em secção transversal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); parênquima paliçádico (pp); agrupamento xilemático (ax); espaço intercelular (ei); cloroplastídio (clo); cutícula (cu); idioblasto cristalífero (ic); célula com compostos fenólicos (ccf); parênquima esponjoso (pe); grão de amido (ga); gota lipídica (gl); epiderme (ep); fibras (fb); hipoderme (h). **H** – detalhe de porção da região mediana da lâmina foliar, em secção transversal, na região da nervura principal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); grão de amido (ga); espaço intercelular (ei); xilema (x); gota lipídica (gl); cloroplastídio (clo); feixe vascular (fv); idioblasto cristalífero (ic); floema (f); colênquima (co); fibras (fb); pontoação (pto); célula com compostos fenólicos (ccf); célula secretora (cse); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp); hipoderme (h); epiderme (ep); cutícula (cu).

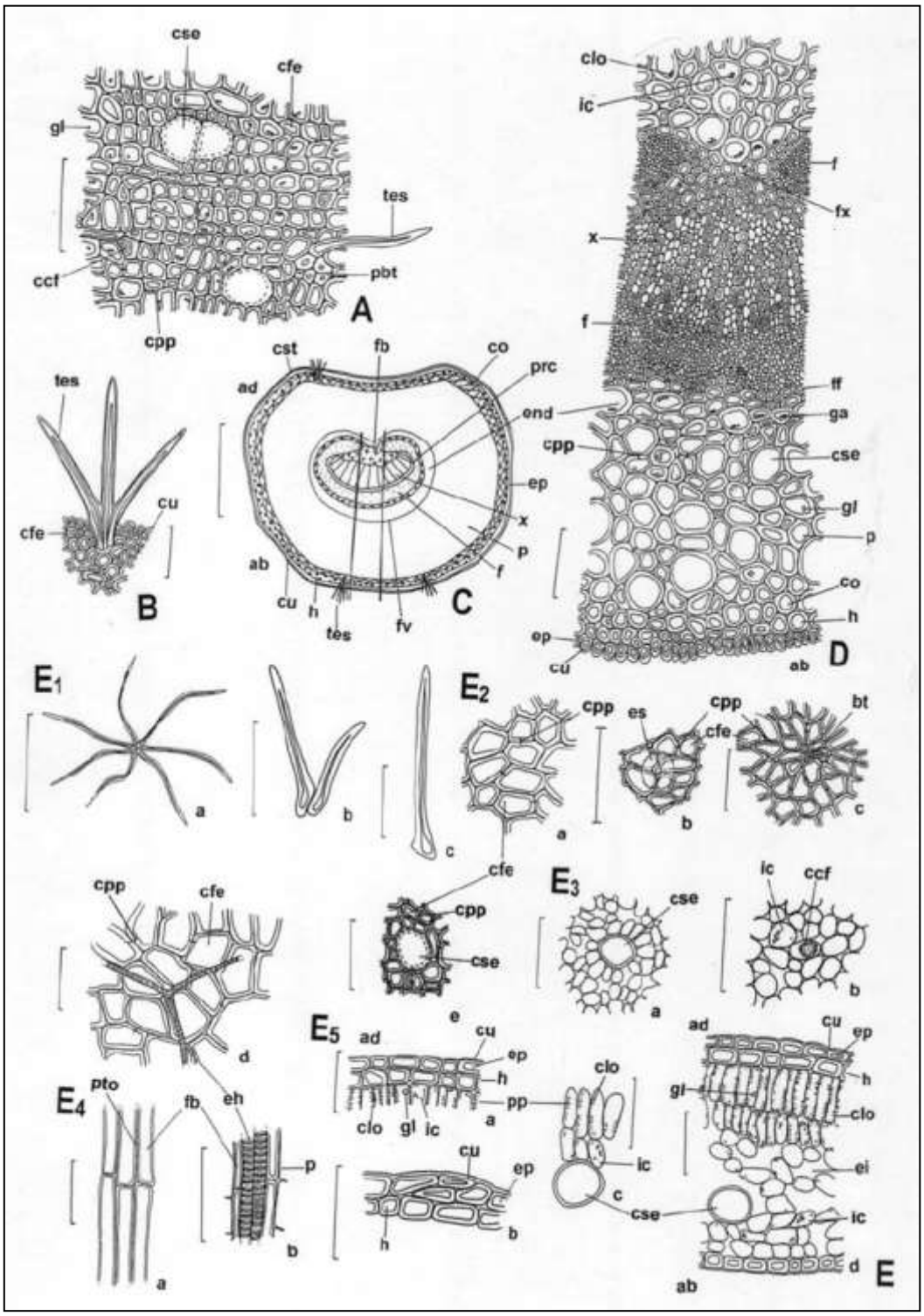


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Peumus boldus* Molina

As escalas correspondem em **A**, **B**, **D** e **E** (**E2** até **E5**) a 100 μm, em **C** a 400 μm e em **E** (**E1**) a 400 μm.
A – detalhe de porção da epiderme do pecíolo, em vista frontal: gota lipídica (gl); célula com compostos fenólicos (ccf); célula secretora (cse); campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe); tricoma estrelado (tes); porção basal de células do tricoma estrelado (pbt). **B –** detalhe de porção da epiderme do pecíolo, em vista lateral: tricoma estrelado (tes); célula fundamental da epiderme (cfe); cutícula (cu). **C** – esquema geral do pecíolo, em secção transversal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); costela (cst); fibras (fb); colênquima (co); procâmbio (prc); endoderme (end); epiderme (ep); xilema (x); floema (f): parênquima (p); feixe vascular (fv); tricoma estrelado (tes); hipoderme (h); cutícula (cu). **D** – detalhe de porção do pecíolo, em secção transversal, conforme destacado em **C**: face abaxial (ab); hipoderme (h); cutícula (cu); epiderme (ep); colênquima (co); parênquima (p); gota lipídica (gl); célula secretora (cse); campo primário de pontoação (cpp); grão de amido (ga); endoderme (end); xilema (x); floema (f); fibras do xilema (fx); floema (F); idioblasto cristalífero (ic); cloroplastídio (clo). **E** – detalhes do pó: célula fundamental da epiderme (cfe); campo primário de pontoação (cpp); estômato (es); base do tricoma (bt); célula secretora (cse); célula com compostos fenólicos

(ccf); idioblasto cristalífero (ic); pontoação (pto); fibras (fb); elemento de vaso com espessamento helicoidal (eh); parênquima (p); face adaxial (ad); face abaxial (ab); cloroplastídio (clo); gota lipídica (gl); cutícula (cu); epiderme (ep); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); espaço intercelular (ei). **E1** – detalhes de tricomas: tricoma estrelado em vista frontal (a), porção de tricoma estrelado em vista lateral (b), célula isolada de tricoma estrelado, em vista lateral (c). **E2** – detalhes da epiderme: porção da epiderme na região do mesofilo, em vista frontal (a), porção da epiderme com estômato, em vista frontal (b), porção da epiderme com células de paredes espessas, mostrando a base de tricoma estrelado, em vista frontal (c), fragmento da epiderme com porção de nervura, em vista frontal (d), porção da epiderme do pecíolo, em vista frontal (e). **E3** – detalhes do mesofilo, em secção transversal: porção do mesofilo com célula secretora (a), porção do mesofilo com cristais de oxalato de cálcio e com célula contendo compostos fenólicos (b). **E4** – detalhes de porções do sistema vascular, em secção longitudinal: agrupamento de fibras (a), fragmento do sistema vascular com porções de fibras, de elementos traqueais e de parênquima (b). **E5** – detalhes de tecidos da lâmina foliar, em secção transversal: fragmento da lâmina com porção de epiderme, de hipoderme e de parênquima paliçádico (a), fragmento da epiderme e da hipoderme (b); porção de parênquima paliçádico com célula secretora e célula contendo cristais (c), fragmento da região do mesofilo (d).

CALÊNDULA, flor
Calendulae flos

A droga consiste de flores liguladas completamente abertas, separadas do receptáculo, dessecadas, inteiras ou fragmentadas, obtidas de capítulos simples ou semiduplicados de *Calendula officinalis* L., acompanhadas de escassas flores tubulosas, brácteas involucrais e raros frutos. Não deve conter menos que 0,4% de flavonoides totais, calculados como hiperosídeo ($C_{21}H_{20}O_{12}$, 464,38), em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores liguladas, femininas, de 15 a 30 mm de comprimento e 5 a 7 mm de largura na porção mediana da lígula, amareladas, amarelo-alaranjadas a pardo-alaranjadas, com o tubo curto externamente piloso e com a lígula tridentada no ápice, apresentando quatro ou cinco nervuras paralelas; flores ocasionalmente acompanhadas de um estilete filiforme e um estigma bífido; ovário de coloração pardo-amarelada a pardo-alaranjada; frutos, quando presentes, aquênios curvos, naviculares, com o dorso coberto de espinhos curtos e de coloração pardo-esverdeada. Flores tubulosas hermafroditas, escassas, com corola de aproximadamente 5 mm de comprimento, pentalobuladas, de coloração amarela, vermelho-alaranjada ou vermelho-violácea, tubo externamente piloso na porção inferior. Papus ausente.

B. Descrição microscópica

Em material diafanizado, em vista frontal, a epiderme da corola ligulada mostra cutícula estriada sobre células retangulares e alongadas de contorno levemente sinuoso, ausência de estômatos na face superior (adaxial) e presença de escassos estômatos anomocíticos na face inferior (abaxial). Na região basal da face inferior (abaxial) ocorrem tricomas tectores longos, multicelulares, bisseriados, cônicos, de ápice arredondado e tricomas glandulares multicelulares, de pedicelo unisseriado, com três a cinco células, ou bisseriado, com três ou quatro células em cada fileira, ambos com cabeça ovalada, multicelular, geralmente bisseriada. No parênquima, por transparência, são visíveis prismas e pequenos aglomerados de cristais e numerosas gotas de óleo de coloração amarelo-alaranjada a amarelo-clara. O parênquima da lígula é atravessado longitudinalmente por quatro ou cinco feixes vasculares, com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados e helicoidais. Junto às células parenquimáticas das corolas tubulosas são encontrados cinco feixes vasculares bifurcados abaixo da zona de soldadura das pétalas. No ovário ocorrem tricomas glandulares iguais aos das corolas liguladas.

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 pardo-amarelada; fragmentos de corolas contendo gotas de óleo de coloração amarelo-clara, alguns com estômatos anomocíticos grandes, outros com prismas e drusas de oxalato de cálcio; tricomas glandulares com pedicelo unisseriado ou bisseriado (pluricelulares); grãos de pólen esféricos, de 40 a 45 μm de diâmetro, com exina fortemente equinada e com três poros germinativos; ocasionalmente podem ocorrer fragmentos dos estigmas com papilas curtas e bulbosas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico anidro e água (80:10:10).

Solução amostra: ferver, sob refluxo, 1 g da droga pulverizada com 10 mL de álcool metílico durante 10 minutos e filtrar.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de rutina, 1 mg de ácido cafeico e 1 mg de ácido clorogênico em álcool metílico, completar o volume para 10 mL utilizando o mesmo solvente 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, deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 ºC 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 por 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	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência azul intenso
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência azul claro
Rutina: zona de fluorescência marron-amarelada	Zona de fluorescência marron-amarelada Zona de fluorescência azul claro
Solução referência	***Solução amostra***

TESTES

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

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* 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.

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 (800 μm) **(5.2.11)**, e transferir para balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura em algodão para um balão volumétrico de 100 mL, retornar o resíduo da droga e o algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 20 mL de acetona. Colocar em refluxo, por 10 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, filtrar a solução para o balão volumétrico de 100 mL. Repetir a operação. Em seguida, completar o volume do balão volumétrico com acetona e homogeneizar. Em funil de separação, adicionar 20 mL dessa solução e 20 mL de água e, a seguir, extrair com 15 mL de acetato de etila. Repetir três vezes a extração, com porções de 10 mL de acetato de etila cada vez. Reunir as fases de acetato de etila e lavá-las 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: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em álcool metílico. Diluir em balão volumétrico de 25 mL com solução de ácido acético glacial 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 glacial a 5% (v/v) em álcool metílico e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, em cubeta de 1 cm, após exatamente 30 minutos, utilizando *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TFT} = \frac{\mathrm{A} \times 1{,}25}{m \times 500}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
500 = coeficiente de absorção específica do hiperosídeo;
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.

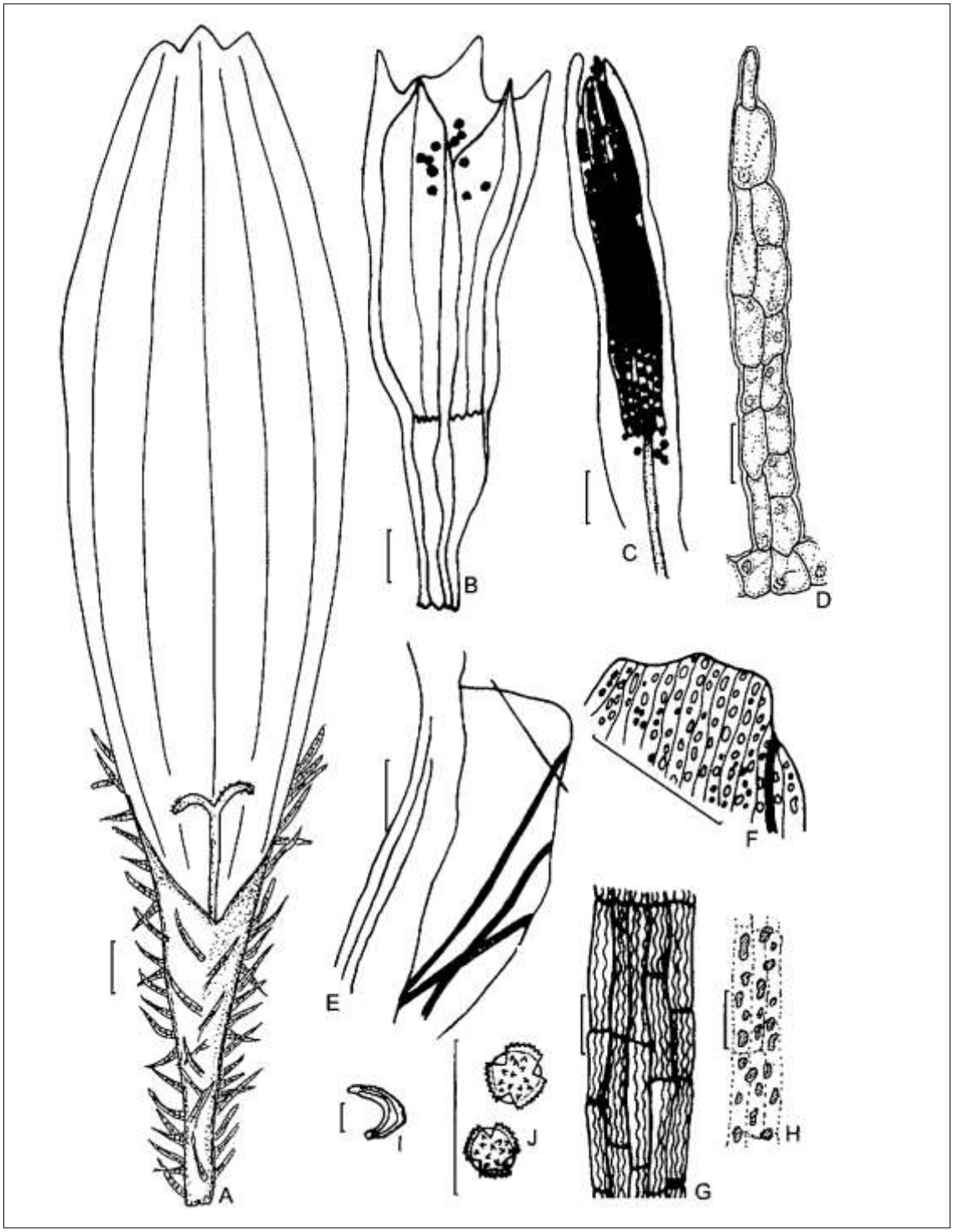


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Calendula officinalis* L.

As escalas correspondem em A a 1 mm; em B e C a 0,5 mm; em D a H a 100 µm e em I a 1 mm.
A - flor pistilada ligulada. **B** - flor tubulosa do disco. **C** - anteras da flor tubulosa, com grãos de pólen. **D** - tricoma multicelular bisseriado do tubo da corola da flor ligulada. **E** - fragmento da lígula. **F** - detalhe da extremidade do fragmento da lígula como mostrado em E, com gotas de óleo no parênquima. **G** - fragmento de epiderme da lígula com cutícula estriada. **H** - fragmento de parênquima da lígula contendo gotas de óleo. **I** - aspecto do fruto. **J** - grãos de pólen tricolpados.

CAMOMILA, flor
Matricariae flos

A droga vegetal consiste de capítulos florais secos de *Matricaria chamomilla* L. [syn. *Matricaria recutita* L. e *Chamomilla recutita* (L.) Rausch.], contendo, no mínimo, 0,4% de óleo volátil, e, no mínimo, 0,25% de apigenina-7-*O*-glucosídeo ($C_{21}H_{20}O_{10}$, 432,38).

CARACTERÍSTICAS

As inflorescências possuem odor aromático e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Capítulos de 10 a 17 mm de diâmetro, constituídos de uma porção central hemisférica ou cônica, de três a 10 mm de diâmetro, internamente oca e externamente coberta de flores tubulosas amarelas, sem páleas, rodeada por 12 a 17 flores marginais, liguladas e brancas. Capítulos maduros e secos com flores liguladas visivelmente voltadas para o pedicelo. Invólucro verde, formado por duas a três séries de brácteas oblongo-lanceoladas, glabras ou com tricomas glandulares bisseriados na face abaxial, imbricadas, com ápices obtusos e margem hialina. Flores marginais pistiladas, dispostas em uma só série, com o tubo da corola curto e reto, levemente amarelado, de até 1,5 mm de comprimento, comprimido na altura da abertura da lígula; lígula bem desenvolvida, tridentada, longo-ovalada ou oblonga, de sete a 10 mm de comprimento por até dois a três mm de largura, marcada por quatro nervuras longitudinais, essas raramente acompanhadas por uma ou duas nervuras paralelas mais curtas; estilete constituído de dois ramos papilosos. Flores centrais perfeitas, numerosas, de até 2,5 mm de comprimento, com tubo reto e limbo pentalobado; lobos agudos, iguais, alargando-se a partir de forte constrição, onde se observa grande densidade de tricomas glandulares; cinco estames, sinânteros e epipétalos; ovário ínfero, estilete igual ao das flores liguladas. Fruto aquênio ovóide, com três a cinco estrias longitudinais.

B. Descrição microscópica

Brácteas do invólucro, quando diafanizadas e em vista frontal, apresentam margem escariosa formada por células alongadas, de paredes finas e com cutícula levemente estriada; a epiderme tem numerosos estômatos anomocíticos e no mesofilo, por transparência, são visíveis elementos de condução e muitas fibras, com numerosas pontoações. A epiderme da corola das flores liguladas e tubulosas, em vista frontal, apresenta cutícula estriada e células com paredes periclinais muito finas e levemente sinuosas; em secção transversal, a epiderme das flores liguladas é fortemente papilosa na face abaxial, assim como na face adaxial dos lobos das flores tubulosas. Ocorrem tricomas glandulares esparsos na epiderme da corola ligulada, particularmente numerosos na débil constrição que corresponde à abertura da lígula e também na face abaxial e margem das corolas tubulosas, onde são abundantes. Em secção transversal, no mesofilo das corolas de ambas as flores ocorrem pequenos agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio. As células do ápice dos estiletes, nos estigmas, são nitidamente papilosas. Os filetes dos estames são cilíndricos e a epiderme é composta de células pequenas de paredes levemente espessadas; nas paredes das anteras encontram-se agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio e, no seu interior, grãos de pólen esféricos com três poros germinativos e exina espinhosa. Na base do ovário dos dois tipos de flores ocorre um anel formado por três camadas de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas; a epiderme do ovário é formada por células alongadas

com paredes sinuosas, apresentando fileiras longitudinais de tricomas glandulares com cabeça bisseriada de duas a quatro células, alternadas com células oblongas a fusiformes, contendo mucilagens; numerosos agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio ocorrem nas paredes internas do ovário. Os aquênios apresentam células produtoras de mucilagem e tricomas glandulares na superfície; a base do aquênio é formada por um anel de esclereídes isodiamétricos, com paredes grossas e lúmen pequeno.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelada; fragmentos de brácteas do invólucro com margem escariosa e cutícula estriada; estômatos anomocíticos e elementos de condução e fibras com numerosas pontoações; fragmentos de epiderme das corolas com cutícula estriada; fragmentos de epiderme das corolas com papilas; fragmentos de estilete e estigmas com papilas na extremidade desses; fragmentos de ovários ou de aquênios com restos do anel formado pelas camadas de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas; fragmentos de paredes de ovários ou de aquênios com agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio; tricomas glandulares bisseriados, com um pé de duas células e com cabeça formada por duas a quatro células por série, com cutícula bem expandida, formando vesícula onde se deposita o óleo volátil; grãos de pólen maduros com cerca de 30 µm; grupos de grãos de pólen imaturos com exina indistinta.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

Solução amostra: diluir 50 µL de óleo volátil obtido na *Determinação de óleo volátil* em 1 mL de xileno.

Solução referência: diluir 2 µL de camazuleno, 5 µL de levomenol e 10 mg de acetato de bornila em 5 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. Nebulizar a placa com solução de vanilina sulfúrica SR, 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.

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-violácea
	Zona de coloração violácea
Levomenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
	Zona de coloração azul
	Zona de coloração amarelo-esverdeada
Solução referência	***Solução amostra***

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 5,0%.

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.

Material fragmentado. Passar 20 g de droga vegetal íntegra por tamis (710) **(5.2.11)**. No máximo 25,0%.

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)**. Adicionar 30 g de droga recentemente pulverizada em um balão de fundo redondo de 1000 mL contendo 500 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Destilar

a uma velocidade de 3 a 4 mL por minuto durante quatro horas. Após o final da destilação, desligar a água do condensador, porém continuar destilando até que todo conteúdo azul aderido às paredes do condensador se junte ao óleo recolhido no tubo graduado. Reiniciar o fluxo de água e destilar durante mais 10 minutos. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

Apigenina-7-*O*-glucosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 340 nm, pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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

Diluente: *Eluente (A)* e *Eluente (B)* (75:25)

Solução amostra: reduzir 4 g da droga a pó (500) **(5.2.11)**. Introduzir 0,2 g da droga pulverizada em um balão de fundo redondo de 50 mL e adicionar 20 mL de álcool etílico a 96%. Aquecer, sob refluxo, em banho-maria durante 15 minutos. Resfriar e filtrar em algodão. Lavar o algodão com 2 mL de álcool etílico a 96% (v/v). Adicionar ao filtrado 1 mL de solução de hidróxido de sódio a 8,5% (p/v) recentemente preparada e aquecer sob refluxo em banho-maria por 1 hora. Resfriar. Diluir até 25 mL com álcool etílico a 96% (v/v). A 5 mL dessa solução adicionar 0,05 g de ácido cítrico. Agitar durante cinco minutos. Diluir 500 µL do filtrado obtido à 1 mL com o *Diluente*. Filtrar em unidade filtrante 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 1,0 mg de apigenina-7-*O*-glucosídeo em 10 mL de álcool metílico. Diluir 250 µL dessa solução até 2 mL com o *Diluente*. Filtrar em unidade filtrante 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*-glucosídeo total, segundo a expressão:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r \times 0{,}625}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

em que,

TA = teor de apigenina-7-*O*-glucosídeo % (p/p);
A_a = área sob o pico correspondente à apigenina-7-*O*-glucosídeo na *Solução amostra*;
A_r = área sob o pico correspondente à apigenina-7-*O*-glucosídeo na *Solução referência*;

m_a = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;
m_r = massa em gramas de apigenina-7-*O*-glucosídeo, considerando a pureza da substância de referência.

Adequabilidade do sistema: preparar uma solução contendo 50 µg/mL de rutina em álcool metílico. Misturar 250 µL da solução de rutina a 250 µL da *Solução referência* de apigenina-7-*O*-glucosídeo descrita nessa monografia. Completar o volume a 1 mL. O cromatograma obtido deve apresentar resolução mínima de dois minutos entre os picos da apigenina-7-*O*-glucosídeo e rutina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

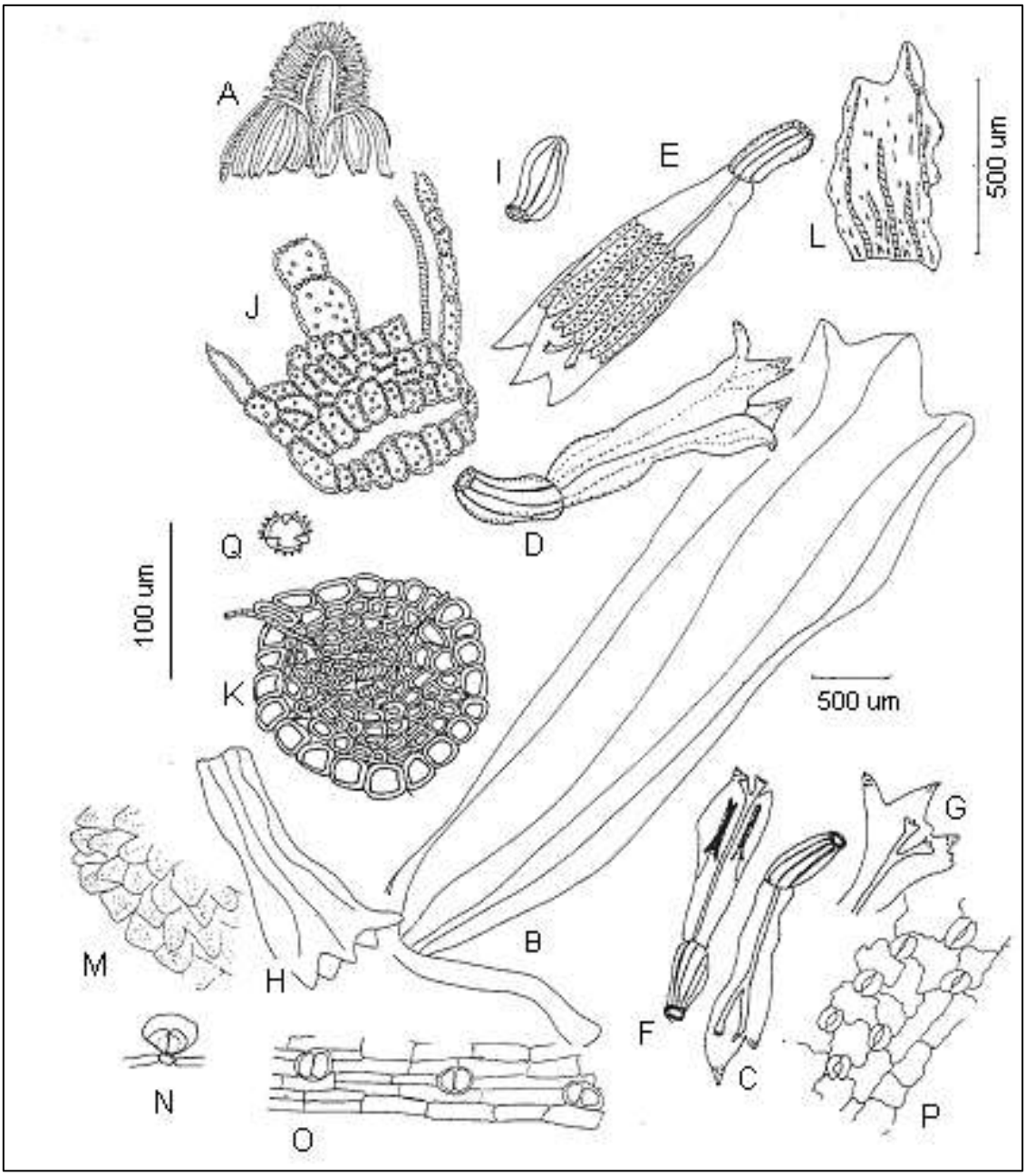


Figura 1–Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Matricaria chamomilla* L.

As escalas correspondem em A a 1 cm, em B e G a 1 mm, em C a F, H-I a 1 mm, em J-K a 100 µm, em L a Q a 500 µm. **A** – aspecto da secção longitudinal do capítulo. **B** - corola ligulada em vista lateral. **C** - fragmento de corola ligulada mostrando o estilete dividido em dois ramos papilosos. **D** - flor com corola tubulosa em vista lateral. **E** - flor tubulosa em vista lateral, seccionada longitudinalmente, mostrando os estames sinânteros. **F** - flor tubulosa em vista lateral, seccionada longitudinalmente, mostrando os estames epipétalos. **G** - fragmento de porção apical de corola mostrando o estilete dividido. **H** - corola tubulosa isolada. **I** - fruto isolado. **J** - anel de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas da base do ovário, em vista lateral. **K** - anel de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas da base do ovário, em vista frontal. **L** - fragmento de bráctea do invólucro com elementos de condução e muitas fibras. **M** - fragmento de corola com papilas evidentes. **N** - tricoma glandular em vista lateral. **O** - fragmento de epiderme da corola com tricomas glandulares, em vista frontal. **P** - fragmento da epiderme da bráctea do invólucro com estômatos anomocíticos. **Q** - grão de pólen isolado.

CANELA-DA-CHINA, casca
Cinnamomi cassiae cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas de *Cinnamomum cassia* (L.) J.Presl (syn. *Cinnamomum aromaticum* Nees), contendo, no mínimo, 1,0% de óleo volátil, constituído por 70,0% a 90,0% de *trans*-cinamaldeído.

CARACTERÍSTICAS

Possui odor aromático característico menos acentuado que o da canela-do-ceilão.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fragmentos de casca com 3 a 7 cm de comprimento, 1 a 2 cm de largura e 1 a 2 mm de espessura. A superfície externa, correspondente aos restos do súber, possui coloração parda, castanha ou acinzentada, com manchas ou estrias e lenticelas; a textura é rugosa e não áspera. A superfície interna, correspondente à região do floema, possui coloração castanho-clara a castanha e textura lisa e homogênea.

B. Descrição microscópica

O ritidoma é formado por duas a três camadas em escamação, com células de paredes suberizadas, sendo as periclinais externas espessas. Lenticelas são comuns. O felogênio é formado por células alongadas tangencialmente, contendo compostos fenólicos. Internamente ao felogênio predomina tecido parenquimático, onde ocorrem células pétreas isoladas ou agrupadas e idioblastos mucilaginosos. Idioblastos oleíferos e grande quantidade de células contendo grãos de amido simples predominantemente, ou compostos, são observados. Na região cortical ocorrem idioblastos fenólicos. Na região mais interna do parênquima cortical, próximo ao floema, ocorre uma faixa contínua e irregular de células pétreas que compreendem duas a dez camadas. O floema apresenta parênquima seriado e fibras libriformes esparsas ou isoladas. Os raios parenquimáticos são formados por duas células de largura, raro três, e cinco a 18 células de altura, onde é usual ocorrer idioblastos fenólicos com grande concentração de cristais aciculares de oxalato de cálcio similares a ráfides, além de cristais prismáticos. São observados idioblastos oleíferos e mucilaginosos.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; grãos de amido isolados e/ou agrupados, simples ou compostos; fragmentos de tecido parenquimático contendo grãos de amido e gotas lipídicas; grande quantidade de cristais dissociados, aciculares e/ou prismáticos de ápice truncado; células pétreas isoladas e/ou agrupadas, dissociadas ou no interior de fragmentos de tecido parenquimático; raros esclereídes colunares, isolados; fibras de 600 μm de comprimento, em média, e 35 μm de largura, em média, com paredes espessas, lúmen estreito, isoladas ou associadas a fragmentos de parênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel G (0,250 mm).

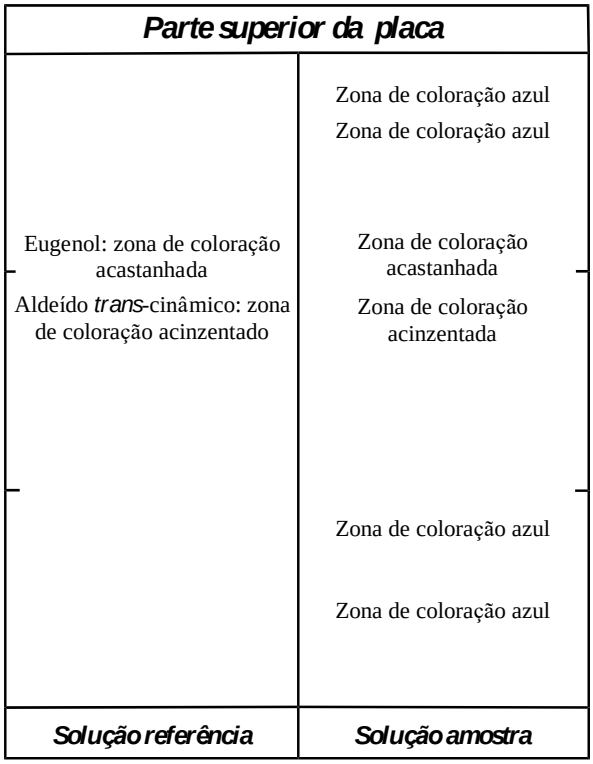
Fase móvel: cloreto de metileno.

Solução amostra: utilizar cerca de 3 g do pó e agitar durante 15 minutos com 15 mL de cloreto de metileno. Filtrar e evaporar até quase secura em banho-maria. Dissolver o resíduo com 0,4 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 10 µL de eugenol e 50 µL de aldeído *trans*-cinâmico, em 10 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 durante cinco minutos. Visualizar sob luz ultravioleta as zonas de extinção de fluorescência a 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e colocar 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.



TESTES

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). 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

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 e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Utilizar 50 g da droga pulverizada e destilar a velocidade de 3 mL a 4 mL por minuto, durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

***trans*-Cinamaldeído**

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 cromatográfica 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 purificado a 80 kPa de pressão como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 80	60 → 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. O *trans*-cinamaldeído e o *cis*-cinamaldeído apresentam tempos de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1270 e 1219, respectivamente. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Calcular o Índice de Retenção Relativo (IRR), segundo a expressão:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr_x} - \mathrm{tr_z})}{(\mathrm{tr_{z+1}} - \mathrm{tr_z})}$$

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

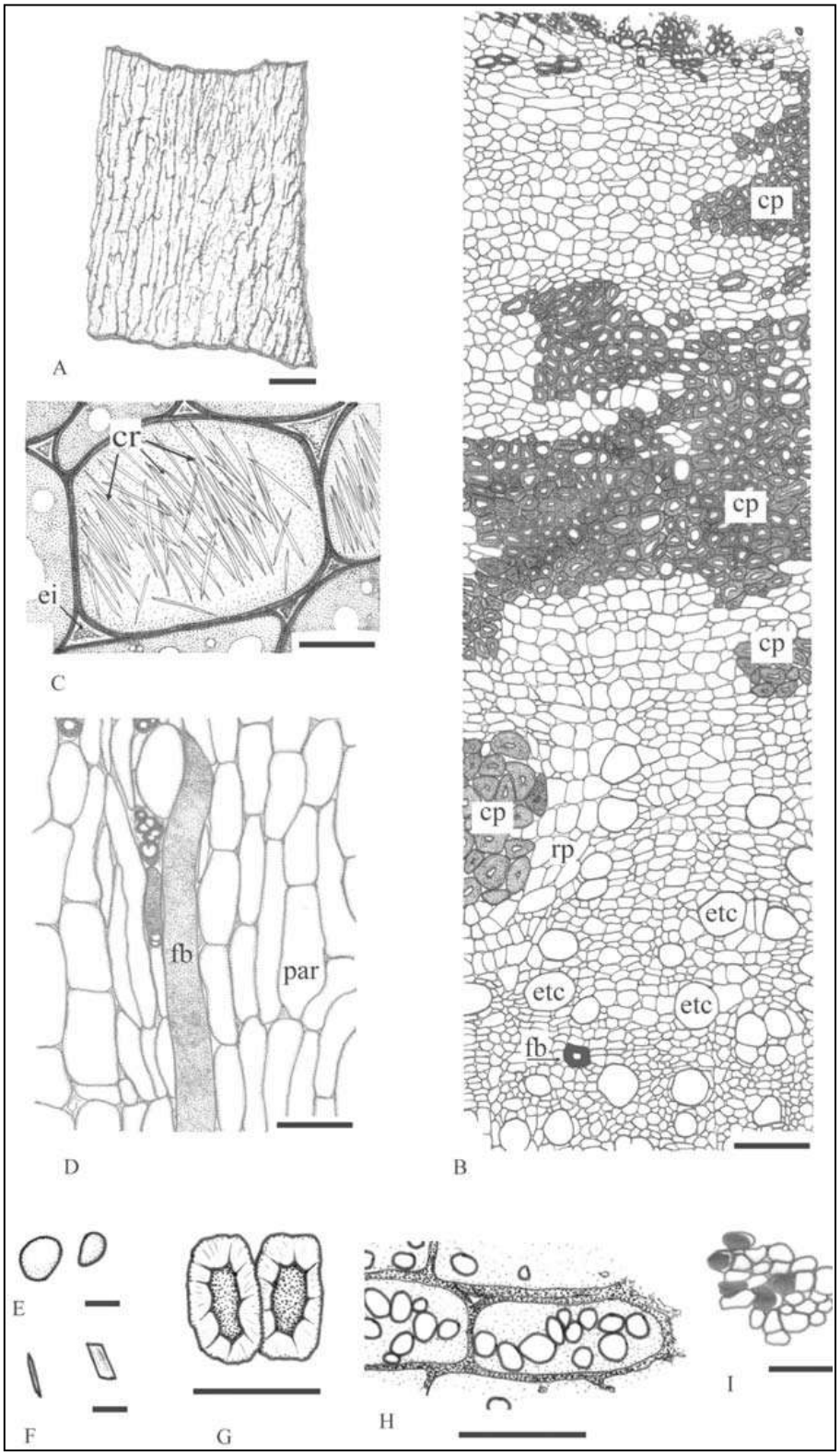


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cinnamomum cassia* (L.) J.Presl**

As escalas correspondem em **A** a 5 mm; em **B** a 40 μm; em **C** a 10 μm; em **D** a 20 μm; em **E** a 17,5 μm; em **F** a 3,8 μm; em **G** a 24,5 μm; em **H** e **I** a 37,5 μm.

A – aspecto geral de porção da casca. **B** – aspecto histológico de porção externa da casca através de secção transversal: células pétreas (cp); raio parenquimático (rp); fibra (fb); elemento de tubo crivado (etc). **C** – detalhe de um idioblasto contendo cristais aciculares de oxalato de cálcio: cristal (cr); espaço intercelular (ei). **D** – detalhe parcial de porção do floema, em secção longitudinal: fibra (fb); parênquima (par). **E**, **F**, **G** e **H** – detalhes do pó. **E** – grãos de amido. **F** –

cristais truncado e acicular. **G** – células pétreas. **H** – células de parênquima com grãos de amido. **I** – células parenquimáticas com inclusão lipídica.

CANELA-DO-CEILÃO, casca
Cinnamomi zeylanici cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas de *Cinnamomum verum* J.Presl (syn. *Cinnamomum zeylanicum* Blume), isentas da periderme e do parênquima cortical externo, provenientes do caule principal e de ramificações desse, contendo, no mínimo, 1,2% de óleo volátil contendo, no mínimo, 60% de *trans*-cinamaldeído.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta aroma característico de aldeído cinâmico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Porções de cascas apresentam-se enroladas para dentro nas duas margens, formando tubos, com em média 30 cm de comprimento e 0,2 a 0,4 mm de espessura. Externamente a superfície é lisa ou com estrias longitudinais levemente mais escuras, podendo ou não ser paralelas e com ondulações que podem ser regulares. A coloração externa é castanho-pardacenta, enquanto a interna é castanho-escura a quase vinácea.

B. Descrição microscópica

A porção de casca é restrita ao floema e tecidos adjacentes. A região externa, em secção transversal, possui células pétreas que ocorrem em grupos numerosos em faixas descontínuas no parênquima. Nas células parenquimáticas ocorrem, simultaneamente, cristais de oxalato de cálcio, prismáticos, aciculares pequenos, de ápices agudos ou truncados, romboédricos, além de idioblastos oleíferos e fenólicos. Idioblastos mucilaginosos e oleíferos ocorrem junto ao floema. Os raios parenquimáticos do floema possuem uma a duas células de largura e seis a 14 células de altura e apresentam cristais aciculares em grande quantidade. Grãos de amido simples ocorrem em todos os tecidos. Longitudinalmente, são observadas fibras libriformes, esparsas e usualmente isoladas. Esclereídes colunares ramificados podem ser observados.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; abundantes grãos de amido, isolados e/ou agrupados; células parenquimáticas isodiamétricas, contendo abundantes grãos de amido, assim como gotas lipídicas; grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio de forma prismática, romboédrica e/ou acicular, de ápices truncados ou agudos; numerosas fibras de 600 μm de comprimento, em média, e 35 μm de largura, em média, com paredes espessadas, lúmen estreito, isoladas ou associadas a fragmentos de parênquima; esclereídes colunares ramificados e abundantes células pétreas, isoladas e/ou agrupadas, dissociadas ou no interior de fragmentos de tecido parenquimático.

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

Fase estacionária: sílica-gel G (0,250 mm).

Fase móvel: cloreto de metileno.

Solução amostra: utilizar cerca de 3 g do pó e agitar durante 15 minutos com 15 mL de cloreto de metileno. Filtrar e evaporar até quase secura em banho-maria. Dissolver o resíduo com 0,4 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 10 µL de eugenol e 50 µL de aldeído *trans*-cinâmico, em 10 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 durante cinco minutos. Visualizar sob luz ultravioleta as zonas de extinção de fluorescência a 254 nm e zona de florescência a 365 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e colocar 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.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração azul
	Zona de coloração azul
Eugenol: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada
Aldeído *trans*-cinâmico: zona de coloração acinzentado	Zona de coloração acinzentada
	Zona de coloração azul
	Zona de coloração azul
Solução referência	***Solução amostra***

TESTES

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

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

Óleos Voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais* **(5.4.1.6)**. Utilizar um balão de 1000 mL, contendo 500 mL de água como líquido de destilação. Reduzir a amostra a pó grosseiro e proceder, imediatamente, à determinação do óleo volátil a partir de 50 g da droga em pó (710 µm). Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

***trans*-Cinamaldeído**

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo a gás 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 cromatográfica 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 80 kPa de pressão como gás de arraste (1,0 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 80	60→ 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. O aldeído cinâmico apresenta tempo de retenção linear relativo de 1266 (*Z*) e 1214 (*E*). Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização. Calcular o Índice de retenção relativo (IRR), segundo a expressão:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr_x} - \mathrm{tr_z})}{(\mathrm{tr_{z+1}} - \mathrm{tr_z})}$$

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

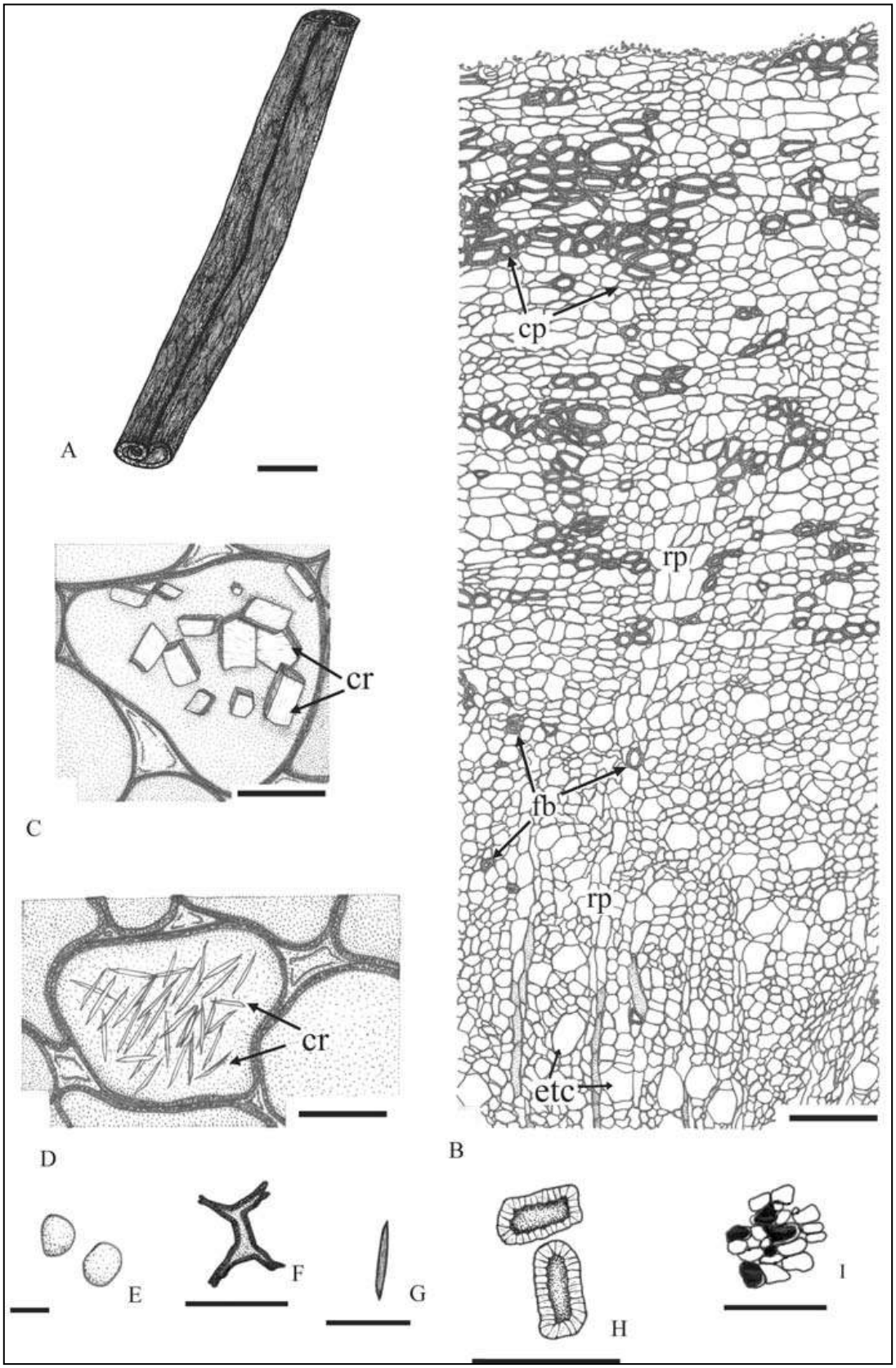


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cinnamomum verum* J.Presl

As escalas correspondem em **A** a 15 mm; em **B** a 80 μm; em **C** e **D** a 10 μm; em **E** a 12,5 μm; em **F** e **I** a 37,5 μm; em **G** a 17,5 μm; em **H** a 125,0 μm.

A – aspecto geral de porção da casca; **B** – aspecto histológico da casca através de secção transversal: células pétreas; elemento de tubo crivado (etc); fibra (fb); raio parenquimático (rp); **C** – idioblasto contendo cristais prismáticos de oxalato

de cálcio: cristal (cr); **D** – idioblasto contendo cristais tipo ráfi de oxalato de cálcio: cristal (cr); **E** – **H** – detalhes do pó; **E** – grãos de amido; **F** – esclereíde colunar ramificado; **G** – cristal acicular; **H** – células pétreas; **I** – células parenquimáticas com inclusão lipídica.

CAPIM-LIMÃO, folha
Cymbopogonis folium

A droga vegetal consiste de folhas dessecadas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf contendo, no mínimo, 0,5% de óleo volátil.

NOMES POPULARES

Capim-cidró, capim-santo.

CARACTERÍSTICAS

As folhas secas apresentam odor característico de citral.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas constituídas por bainha convoluta e lâmina. Bainha alargada em direção à base, de 4 a 26 cm de comprimento, com 0,6 a 6,5 cm de largura na região basal, 1,0 a 3,5 cm na região mediana e 0,9 a 2,1 cm na região apical. Lígula com 0,2 cm de altura, curta e truncada, membranosa, com tricomas simples na base da face adaxial da lâmina. Lâmina de 60 a 85 cm de comprimento, 0,8 a 1,1 cm de largura na região basal e 1,4 a 1,8 cm na região mediana, verde-grisácea quando seca, linear-lanceolada, acuminada no ápice, plana na porção expandida e canaliculada e estreitada na porção basal, áspera devido aos tricomas curtos e silicosos; margem inteira, com tricomas rígidos e cortantes em maior quantidade do que no restante da lâmina; nervuras paralelas, a mediana mais desenvolvida e pronunciada na face abaxial.

B. Descrição microscópica

A bainha foliar, em vista frontal, apresenta na face adaxial epiderme com células de paredes retilíneas, enquanto que na face abaxial as paredes são bastante sinuosas. Escassos tricomas unicelulares silicosos e estômatos, também dispostos em fileiras, ocorrem na região entre as nervuras, em ambas as faces. Em secção transversal, o parênquima fundamental é formado por células volumosas que preenchem quase toda a secção, acompanhados de células secretoras. Junto à face abaxial ocorre um clorênquima. Os feixes vasculares são do tipo colateral e agrupamentos de fibras subepidérmicos ocorrem voltados para ambas as faces. A lâmina foliar, em vista frontal, mostra epiderme de células dispostas em fileiras e composta por células fundamentais ricas em gotas lipídicas e células especializadas: estômatos tetracíticos, células buliformes (estas exclusivas da face adaxial), células suberosas e tricomas silicosos unicelulares e curtos. A lâmina foliar, em secção transversal apresenta mesofilo homogêneo e epiderme uniestratificada. Na face adaxial as células fundamentais na região dos feixes vasculares maiores são muito menores do que as buliformes. Os feixes vasculares são do tipo colateral e de diferentes tamanhos e possuem bainha especializada do tipo kranz; nos feixes mais desenvolvidos ocorre uma bainha mestomática. Cordões de fibras ocorrem em ambas as faces, opostos aos feixes vasculares, sendo que, na face adaxial, acompanham somente os feixes vasculares mais desenvolvidos. As células do clorênquima distribuem-se radialmente em torno dos feixes. Células secretoras ocorrem na região limítrofe entre o clorênquima e o parênquima fundamental.

C. Reações histoquímicas

As células secretoras da bainha e da lâmina são visualizadas em reação com lugol, na qual o conteúdo celular mostra-se denso, de coloração castanha ou vermelho denso, em material fresco ou seco. Na reação com vanilina sulfúrica, o conteúdo das células secretoras mostra-se marrom e denso, podendo estar colapsado e concentrado junto à parede celular. Para a reação com vanilina sulfúrica os cortes devem ser imersos no álcool etílico, passados para a vanilina e flambados, submersos nessa, por dois minutos. A lâmina, para observação, deve ser montada em álcool etílico e os cortes não devem ser passados em água.

D. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-clara a verde-grisácea; porções da epiderme, segundo a descrição microscópica da folha; grande quantidade de fragmentos das nervuras, com tricomas silicosos; porções do mesofilo foliar, porções do bordo com tricomas silicosos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (93:7).

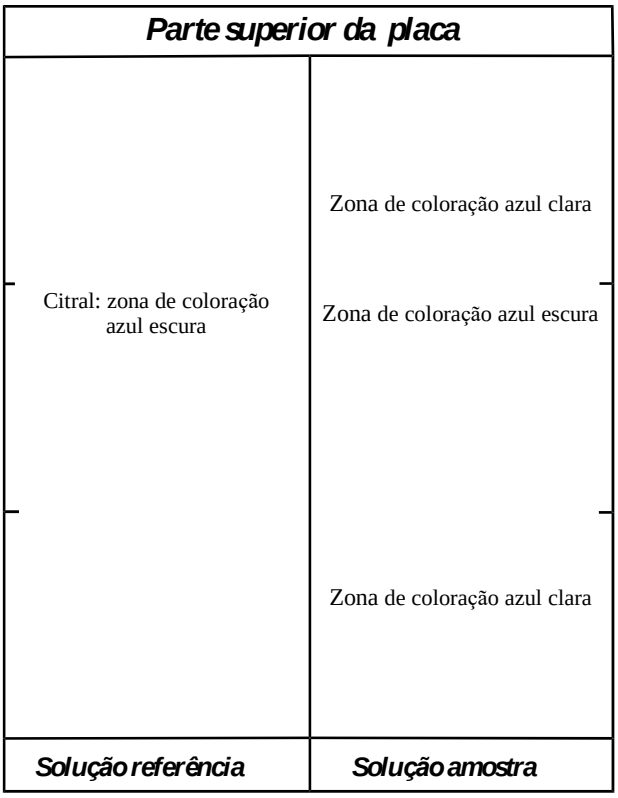
Solução amostra (1): agitar cerca de 0,5 g da droga pulverizada com 10 mL de cloreto de metileno, em recipiente fechado, durante 10 minutos. Filtrar. Concentrar o filtrado até secura, em banho-maria, a temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 10 mL de tolueno.

Solução amostra (2): diluir 2 µL do óleo volátil, obtido em *Doseamento* para *Óleos voláteis*, em 1 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 2 µL de citral em 1 mL de tolueno.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e deixar 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.



TESTES

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

Água (5.4.1.4). 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

Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais* **(5.4.1.6)**. Utilizar balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Utilizar planta seca rasurada. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 50 g da droga rasurada. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

Citral A e citral B

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 (ºC)
Coluna	0 – 80	60 → 300
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir o óleo volátil, obtido em *Doseamento* para *Óleos voláteis*, 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. O citral A (*trans*-citral) apresenta tempo de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1263 e o citral B (*cis*-citral) de 1233. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Calcular o Índice de Retenção Relativa, segundo a expressão:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr_x} - \mathrm{tr_z})}{(\mathrm{tr_{z+1}} - \mathrm{tr_z})}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativa;
n = número de átomos de carbono do alcano de menor peso molecular;
tr_x = tempo de retenção do composto "x" (intermediário a 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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

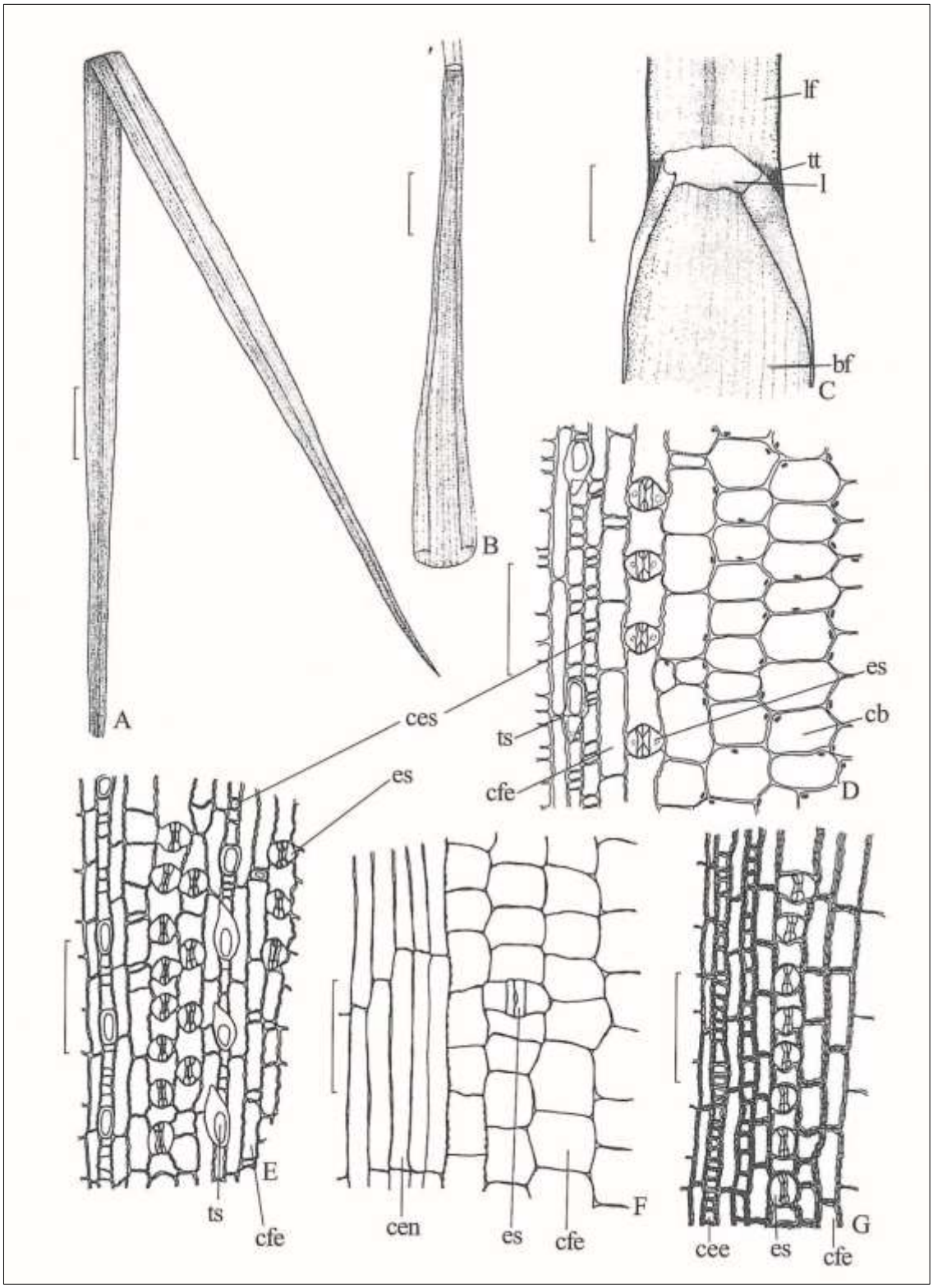


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf**

As escalas correspondem em A e B a 3 cm; em C a 0,5 cm; em D até G a 100 µm.

A - aspecto geral da lâmina foliar. **B** - aspecto geral da bainha foliar. **C** - detalhe da porção entre bainha e lâmina foliar, mostrando lígula e tricomas; bainha foliar (bf); lígula (l); lâmina foliar (lf); tricomas tectores (tt). **D** - detalhe da epiderme da face adaxial da lâmina foliar; estômato (es); célula buliforme (cb); célula fundamental da epiderme (cfe); tricoma silicoso (ts). **E** - detalhe da epiderme da face abaxial da lâmina foliar; célula epidérmica suberosa (ces); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); tricoma silicoso (ts). **F** - detalhe da epiderme da face adaxial da bainha foliar; células fundamentais da epiderme sobre uma nervura (cen); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es). **G** - detalhe da epiderme da face abaxial da bainha foliar; célula epidérmica esclerificada (cee); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es).

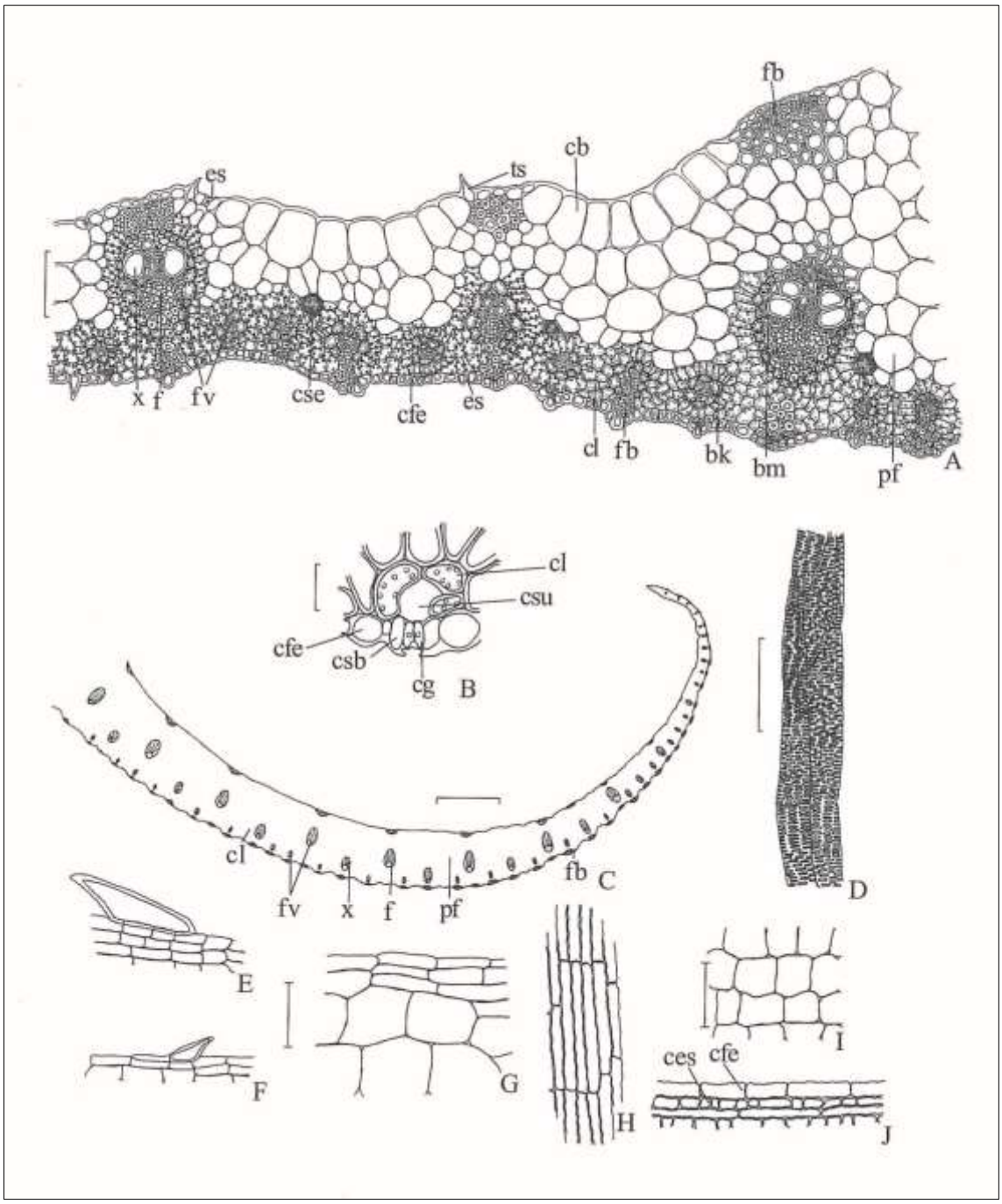


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

As escalas correspondem em A a 100 µm; em B a 20 µm; em C a 1 mm; em D até J a 100 µm.
A - detalhe da secção transversal da lâmina foliar; bainha kranz (bk); bainha mestomática (bm); célula buliforme (cb); célula fundamental da epiderme (cfe); clorênquima (cl); célula secretora (cse); estômato (es); floema (f); fibras (fb); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); tricoma silicoso (ts); xilema (x). **B** - detalhe da lâmina foliar contendo um estômato; célula fundamental da epiderme (cfe); célula-guarda (cg); clorênquima (cl); célula subsidiária (csb); câmara subestomática (csu). **C** - aspecto geral da secção transversal de parte da bainha foliar; clorênquima (cl); floema (f); fibras (fb); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **D** - detalhe de um elemento de vaso com espessamento reticulado. **E-J** - detalhes de fragmentos observados no pó. **E** - bordo foliar com tricoma silicoso. **F** - epiderme com células sobre a nervura mostrando tricoma silicoso. **G** - células epidérmicas. **H** – células da epiderme sobre a nervura. **I** - células epidérmicas. **J** - detalhe de porção de epiderme; célula suberosa (ces); célula fundamental da epiderme (cfe).

CARDAMOMO, semente
Cardamomi semen

A droga vegetal consiste de sementes de *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, comercializadas ainda dentro dos frutos. As sementes devem ser utilizadas imediatamente após a quebra dos frutos. Contém, no mínimo, 5,0% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

As sementes, quando trituradas, têm forte odor

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica do fruto

Fruto cápsula trilocular deiscente, com 10 a 25 mm de comprimento e 5 a 10 mm de largura, de coloração amarelo-clara, amarelo-esverdeada a amarelo-acinzentada, ovoide ou oblonga em vista lateral, trígona ou arredondada em secção transversal, com porção apical estreitado-tubulosa em cerca de 1 a 2 mm, com ou sem cicatriz dos órgãos florais visível e com cicatriz ou restos de pedicelo na porção basal. Pericarpo delgado, coriáceo. Epicarpo, em vista frontal, com numerosas estrias longitudinais salientes. Em secção transversal, cápsula trilocular, cada lóculo com duas a sete sementes de placentação axial, aderidas entre si, formando três fileiras duplas, separadas pelas paredes carpelares delgadas, membranosas e pálidas. As sementes são comercializadas dentro do fruto, o qual é coletado imaturo e amadurecido artificialmente, ao sol ou em estufas.

B. Descrição macroscópica da semente

Sementes de placentação parietal, anátropas, duras, ovoides, triangulares ou subcilíndricas, irregularmente angulosas e enrugadas transversalmente, com uma das faces convexa e a outra escavada, com 2 a 4 mm de comprimento e 2 a 3 mm de largura, pretas, cinzento-pardas ou avermelhadas, recobertas por um arilo delgado, tênue e incolor a esbranquiçado. Geralmente as sementes estão aglutinadas em massas, correspondentes às fileiras limitadas pelos carpelos. Com auxílio de lente, em secção transversal, em cada semente são visíveis arilo, tegumento, perisperma, endosperma e embrião.

C. Descrição microscópica da semente

Em vista frontal, o arilo apresenta células retangulares estreitas, alongadas longitudinalmente e irregularmente fusiformes, de paredes delgadas, dispostas em fileiras, com gotas lipídicas. A epiderme possui células alongadas tangencialmente, fusiformes, de paredes anticlinais espessas e pontoadas, dispostas em ângulo oblíquo em relação ao arilo, com gotas lipídicas. Por transparência, o parênquima de reserva é visível, formado por células parenquimáticas volumosas, de diferentes formas, de paredes delgadas e onduladas, ricas em gotas lipídicas. Em secção transversal, o arilo apresenta células achatadas, de paredes finas. A epiderme é formada por células quadrangulares, de paredes espessas e apresenta algumas gotas lipídicas. A hipoderme possui células geralmente retangulares, achatadas tangencialmente, de paredes delgadas, geralmente irregulares quanto ao número de células. O parênquima de reserva possui algumas camadas de células volumosas, de diferentes formas, poligonais a retangulares, de paredes delgadas, contendo gotas lipídicas. Pode ocorrer internamente ao parênquima de reserva uma camada regular ou não, de células

parenquimáticas de menor volume. Segue uma ou mais camadas de células esclerenquimáticas colunares, com as paredes periclinais interna e anticlinais muito espessadas e alaranjadas, com lúmen em forma de cuia e com ou sem cristais de sílica. O perisperma é esbranquiçado e apresenta as primeiras camadas de células parenquimáticas achatadas tangencialmente, de paredes delgadas, repletas de grãos de amido, seguidas por muitas camadas de células de forma irregular, colunares ou poligonais, volumosas, com paredes delgadas e as anticlinais onduladas, contendo grande quantidade de grãos de amido, gotas lipídicas e cristais de oxalato de cálcio. O endosperma possui células parenquimáticas alongadas, de variadas formas, de paredes delgadas, distribuídas em várias camadas paralelas, envolvendo completamente o embrião e apresentando gotas lipídicas e grãos de aleurona. O embrião é ovoide e de coloração escura e suas células são arredondadas a ovoides, de paredes delgadas, apresentando grãos de aleurona e gotas lipídicas.

D. Descrição microscópica do pó da semente

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos, não devendo conter elementos do pericarpo. São características, com a adição de hidrato de cloral SR: coloração cinzento-pardacenta; fragmentos do arilo, em vista frontal; fragmentos da epiderme, em vista frontal; fragmentos do arilo com células de parênquima de reserva, visualizadas por transparência, em vista frontal; fragmentos do arilo, da epiderme e do parênquima de reserva, visualizados por transparência, em vista frontal; fragmentos da epiderme e do parênquima de reserva, visualizado por transparência, em vista frontal; fragmentos da epiderme, em secção transversal; fragmentos da hipoderme, em vista frontal; fragmentos do parênquima de reserva, em vista frontal; fragmentos do parênquima de reserva, em secção transversal; fragmentos de esclerênquima em vista frontal; fragmentos da camada esclerenquimática, em secção transversal; fragmentos da camada esclerenquimática e do perisperma em secção transversal; fragmentos do perisperma, em vista frontal ou em secção transversal; fragmentos do endosperma, em secção transversal; células parenquimáticas isoladas; fibras isoladas em vista longitudinal; grãos de amido isolados e/ou agrupados; cristais de oxalato de cálcio isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (93:7).

Solução amostra: a 0,1 g da droga pulverizada, adicionar 2 mL de cloreto de metileno. Agitar por 15 minutos, filtrar e concentrar até secura em banho-maria a, aproximadamente, 60 ºC. Suspender em 2 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 10 µg de acetato de terpenila, 10 µg de 1,8-cineol e 10 µL de linalol em 1 mL de tolueno.

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, em seguida, com solução de vanilina sulfúrica SR e deixar em estufa entre 100 °C e 105 °C durante, aproximadamente, 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.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violacea
	Zona de coloração violacea
Acetato de terpenila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
Cineol: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
Linalol: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
	Zona de coloração violácea Zona de coloração azul Zona de coloração verde
Solução referência	***Solução amostra***

TESTES

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.

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 a semente imediatamente após ser removida do fruto, sem triturar. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga. Destilar durante cinco 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.

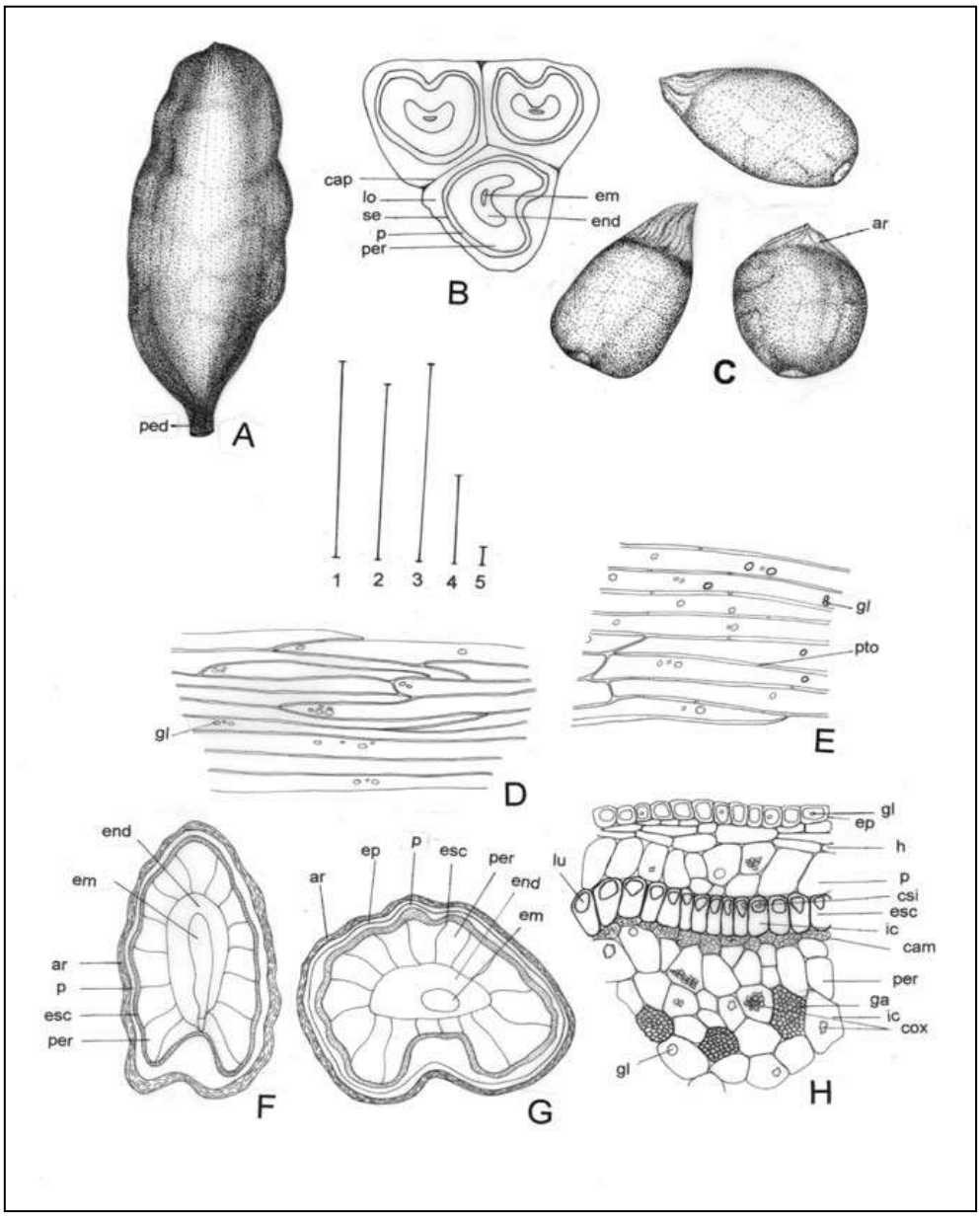


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos do fruto e da semente e microscópicos da semente em *Elettaria cardamomum* (L.) Maton**

As escalas correspondem em **A** a 1cm (régua 1); em **B** a 0,5 cm (régua 2); em **C** a 0,5 cm (régua 3); em **D**, **E** e **H** a 100 μm (régua 4); em **F** e **G** a 100 μm (régua 5).

A – aspecto geral do fruto, em vista lateral: pedicelo (ped). **B** – representação esquemática do fruto, em secção transversal: carpelo (cap); embrião (em); endosperma (end); lóculo (lo); parênquima (p); perisperma (per); semente (se). **C** – aspecto geral de sementes, em vista lateral: arilo (ar). **D** – detalhe de porção do arilo, em vista frontal: gota lipídica (gl). **E** – detalhe de porção da epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl); pontoação (pto). **F** – representação esquemática da semente em secção longitudinal: arilo (ar); embrião (em); endosperma (end); esclerênquima (esc); parênquima (p); perisperma (per). **G** – representação esquemática da semente em secção transversal: arilo (ar); embrião (em); endosperma (end); epiderme (ep); esclerênquima (esc); parênquima (p); perisperma (per). **H** – detalhe parcial de porção da semente, em secção transversal: camada amilífera (cam); cristal de oxalato de cálcio (cox); cristal de sílica (csi); epiderme (ep); esclerênquima (esc); idioblasto cristalífero (ic); grãos de amido (ga); gota lipídica (gl); hipoderme (h); lúmen (lu); parênquima (p); perisperma (per).

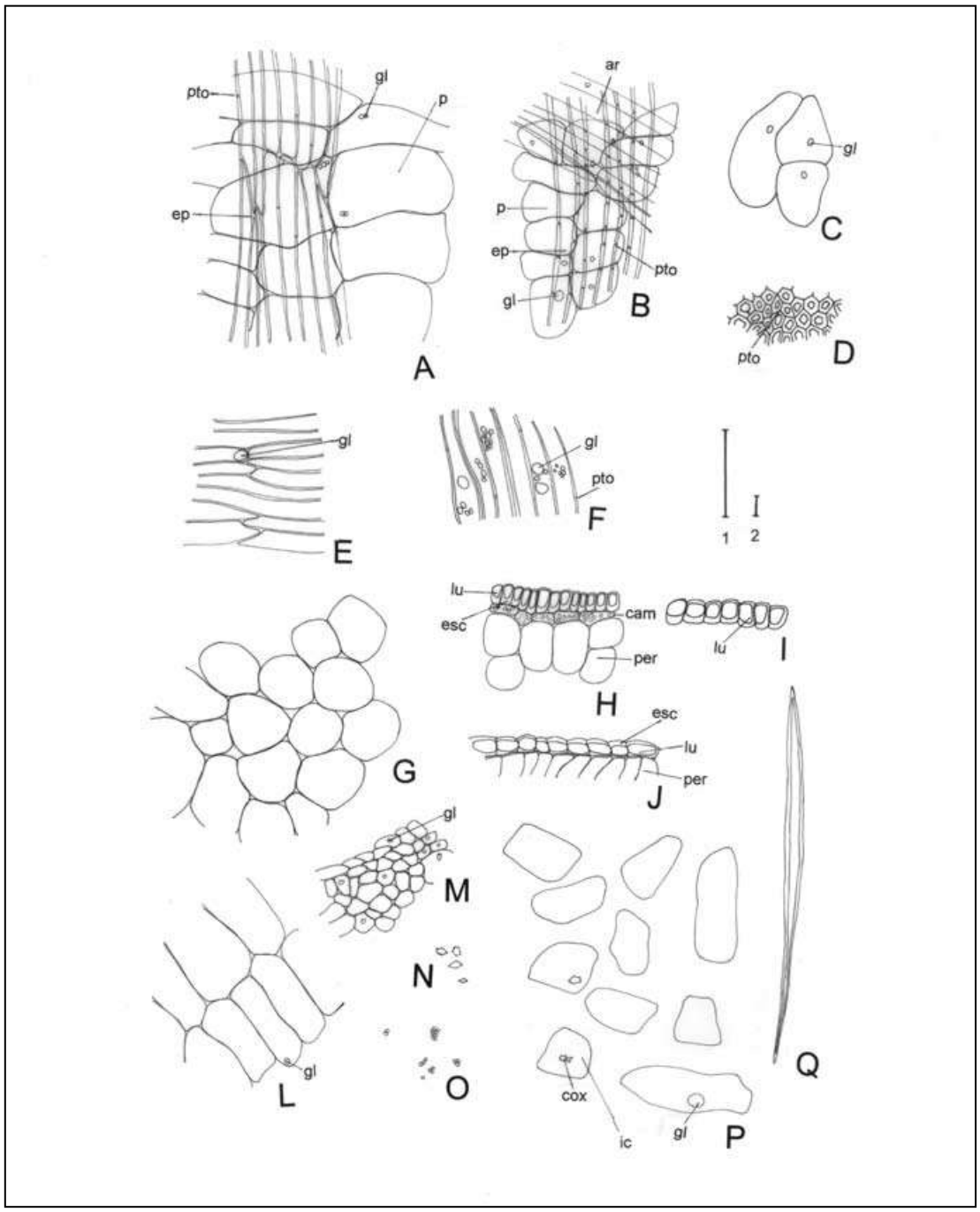


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó da semente em *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

As escalas correspondem em **A** até **P** a 100 μm (régua 1); em **Q** a 100 μm (régua 2).

A – fragmento da epiderme e do parênquima de reserva, observado por transparência, em vista frontal: epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p); pontoação (pto). **B** – fragmento do arilo, da epiderme e do parênquima, em vista frontal: arilo (ar); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p); pontoação (pto). **C** – fragmento do endosperma, em secção transversal: gota lipídica (gl). **D** – fragmento do esclerênquima, em vista frontal: pontoação (pto). **E** – fragmento do arilo, em vista frontal: gota lipídica (gl). **F** – fragmento da epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl); pontoação (pto). **G** – fragmento do parênquima, em vista frontal. **H** – fragmento da camada esclerenquimática e do perisperma, em secção transversal: camada amilífera (cam); esclerênquima (esc); lúmen (lu); perisperma (per). **I** – fragmento da camada esclerenquimática, em secção transversal: lúmen (lu). **J** – fragmento da camada esclerenquimática com restos do perisperma, em secção transversal: esclerênquima (esc); lúmen (lu); perisperma (per). **L** – fragmento do parênquima, em secção transversal: gota lipídica (gl). **M** – fragmento da hipoderme, em vista frontal: gota lipídica (gl). **N** – cristais de oxalato de cálcio isolados. **O** – grãos de amido isolados e/ou agrupados. **P** – células parenquimáticas e idioblastos cristalíferos isolados: cristal de oxalato de cálcio (cox); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic). **Q** – fibra isolada, em vista longitudinal.

CARQUEJA, caule alado
Baccharis trimerae herbae

A droga vegetal consiste de caules alados, dessecados e fragmentados de *Baccharis trimera* (Less.) DC., contendo, no mínimo, 1,7% de ácidos cafeicos totais, expressos como ácido clorogênico ($C_{16}H_{18}O_9$, 354,31).

NOMES POPULARES

Carqueja-amarga.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Ramos cilíndricos, trialados, de até 1 m de comprimento, áfilos ou com raras folhas sésseis e reduzidas nos nós. Alas verdes, membranosas, com 0,5 a 1,5 cm de largura; alas dos ramos floríferos mais estreitas do que as demais. Planta dioica, portanto, quando presentes ramos floridos, esses devem ser somente pistilados ou somente estaminados. Inflorescências, quando presentes, do tipo capítulo, branco-amareladas, numerosas, sésseis, dispostas ao longo dos ramos superiores, formando espigas interrompidas, com receptáculo plano, não paleáceo; flores com papus presente, piloso e branco.

B. Descrição microscópica

O caule apresenta três alas divergentes, com costelas pronunciadas entre cada ala. O eixo caulinar, em secção transversal, apresenta epiderme uniestratificada, coberta por cutícula estriada. Ocorrem poucos estômatos e tricomas glandulares, bisseriados formados por duas células basais e a cabeça com duas séries de quatro células cada uma. O clorênquima é formado por três ou quatro camadas de células interrompidas na região do colênquima. Os canais secretores, de epitélio formado de três a 14 células e acompanhados de colênquima angular, situam-se externamente à endoderme. Internamente ao clorênquima há uma camada contínua de endoderme com estrias de Caspary. O sistema vascular é colateral. Os cordões de fibras do floema são formados por até sete camadas de células. Internamente ao xilema ocorre uma faixa de fibras quase contínua localizada junto ao parênquima medular. A medula é formada por células esféricas ou elípticas, contendo cristais de oxalato de cálcio, prismáticos e piramidais, dispostos principalmente na zona perimedular. Em secção transversal, as alas exibem estrutura isobilateral. A epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula estriada. Ocorrem estômatos anomocíticos e anisocíticos, distribuídos em ambas as superfícies. Os tricomas tectores e glandulares ocorrem predominantemente na região dos bordos das alas e na junção dessas com o eixo caulinar. Os tricomas tectores ocorrem raramente e são multicelulares e unisseriados com cerca de seis células que se alargam em direção ao ápice e com célula apical afilada, em forma de T. Os tricomas glandulares são similares aos do eixo caulinar. Feixes vasculares colaterais estão dispostos linearmente no parênquima esponjoso, acompanhados de poucas fibras e rodeados por uma bainha parenquimática. Cada feixe está acompanhado por um ou dois canais secretores com epitélio de quatro a 14 células. O colênquima está restrito a apenas uma camada subepidérmica junto à nervura do bordo da ala; abaixo dele ocorre um grupo de fibras de paredes fortemente espessadas, que envolve um a três canais secretores de diferentes tamanhos.

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 com cutícula estriada e estômatos anomocíticos e anisocíticos, além dos tricomas descritos; porções de parênquima medular com cristais de oxalato de cálcio; porções de fibras acompanhadas de canais secretores; fragmentos de colênquima angular. Podem ocorrer, dependendo do grau de fragmentação, porções de ramos trialados com e sem capítulos.

D. Falsificações e adulterantes

Baccharis trimera é comumente adulterada com outras espécies de carquejas, a exemplo de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. e *Baccharis crispa* Spreng. Em *Baccharis articulata* ocorrem duas alas caulinares e um tricoma glandular multicelular e unisseriado, formado por cinco células, sendo a célula apical globosa, enquanto *Baccharis crispa* apresenta três alas caulinares e tricoma tector multicelular, unisseriado, formado por duas células basais, sendo a célula apical alongada e afilada.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

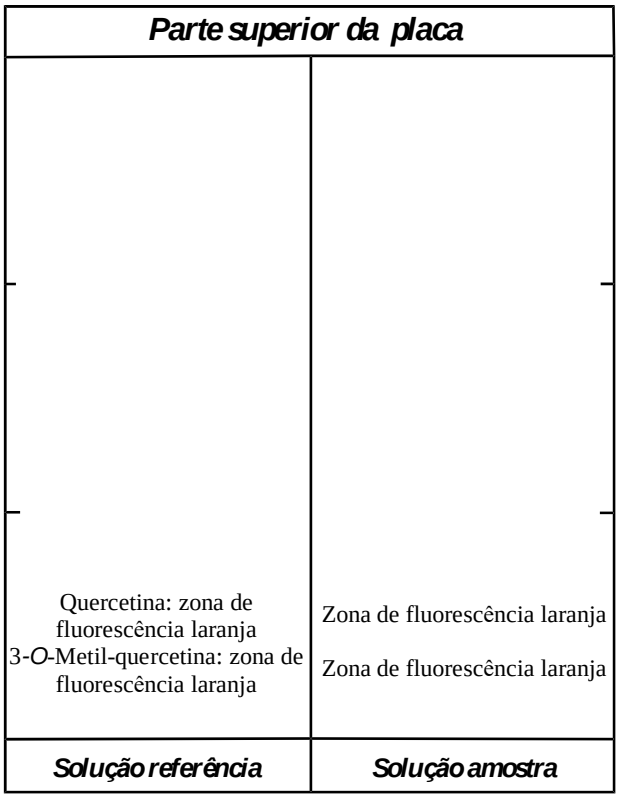
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (70:30).

Solução amostra: agitar 2 g da amostra com 10 mL de cloreto de metileno durante 10 minutos. Filtrar e desprezar a solução de cloreto de metileno. Extrair o resíduo com 10 mL de álcool metílico sob agitação magnética em temperatura de 40 ºC. Filtrar e concentrar até resíduo em rotaevaporador (40 ºC). Suspender o resíduo em 2 mL de álcool metílico.

Solução referência: dissolver 1 mg de quercetina e 1 mg de 3-*O*-metilquercetina 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 ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. A seguir, nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em álcool metílico. Examinar sob a luz do dia.

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



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 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

Ácidos cafeicos totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 325 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 75 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Eluente (A): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5:0,05).

Eluente (B): acetonitrila.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
0 – 30	100 → 57	0 → 43	gradiente linear
30 – 35	57 → 0	43 → 100	gradiente linear
35 – 36	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
36 – 42	100	0	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga seca e pulverizada (250 µm) **(5.2.11)** em béquer de 50 mL. Adicionar 10 mL de mistura de álcool etílico e água (50:50) e levar ao banho-maria (40 °C) durante 10 minutos. Esfriar o extrato à temperatura ambiente. Filtrar o extrato em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Extrair novamente o resíduo da droga retida no algodão com 10 mL de mistura de álcool etílico e água (50:50), levar ao banho-maria (40 °C), durante 10 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com mistura de álcool etílico e água (50:50) e homogeneizar. Diluir 0,12 mL da solução resultante em 1 mL de mistura de água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5:0,05). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: dissolver 5,6 mg de ácido clorogênico em 5 mL de álcool metílico.

Soluções para curva analítica: diluir com mistura de água e acetonitrila (95:5) uma alíquota de 0,2 mL da *Solução estoque* para 0,4 mL, de modo a obter solução a 0,56 mg/mL. Realizar diluições sucessivas da solução anterior, em mistura de água e acetonitrila (95:5), de modo a obter concentrações de 0,28 mg/mL, 0,14 mg/mL, 0,07 mg/mL, 0,035 mg/mL, 0,017 mg/mL e 0,0085 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. Os tempos de retenção relativos aproximados em relação ao ácido clorogênico são 1,69 para o ácido 3,4-dicafeoilquínico; 1,76 para o ácido 3,5-dicafeoilquínico e 1,84 para o ácido 4,5-dicafeoilquínico. Calcular o teor de ácido clorogênico na amostra, em porcentagem (p/p), considerando o teor de água determinado, a partir da equação da reta obtida com as *Soluções para curva analítica*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

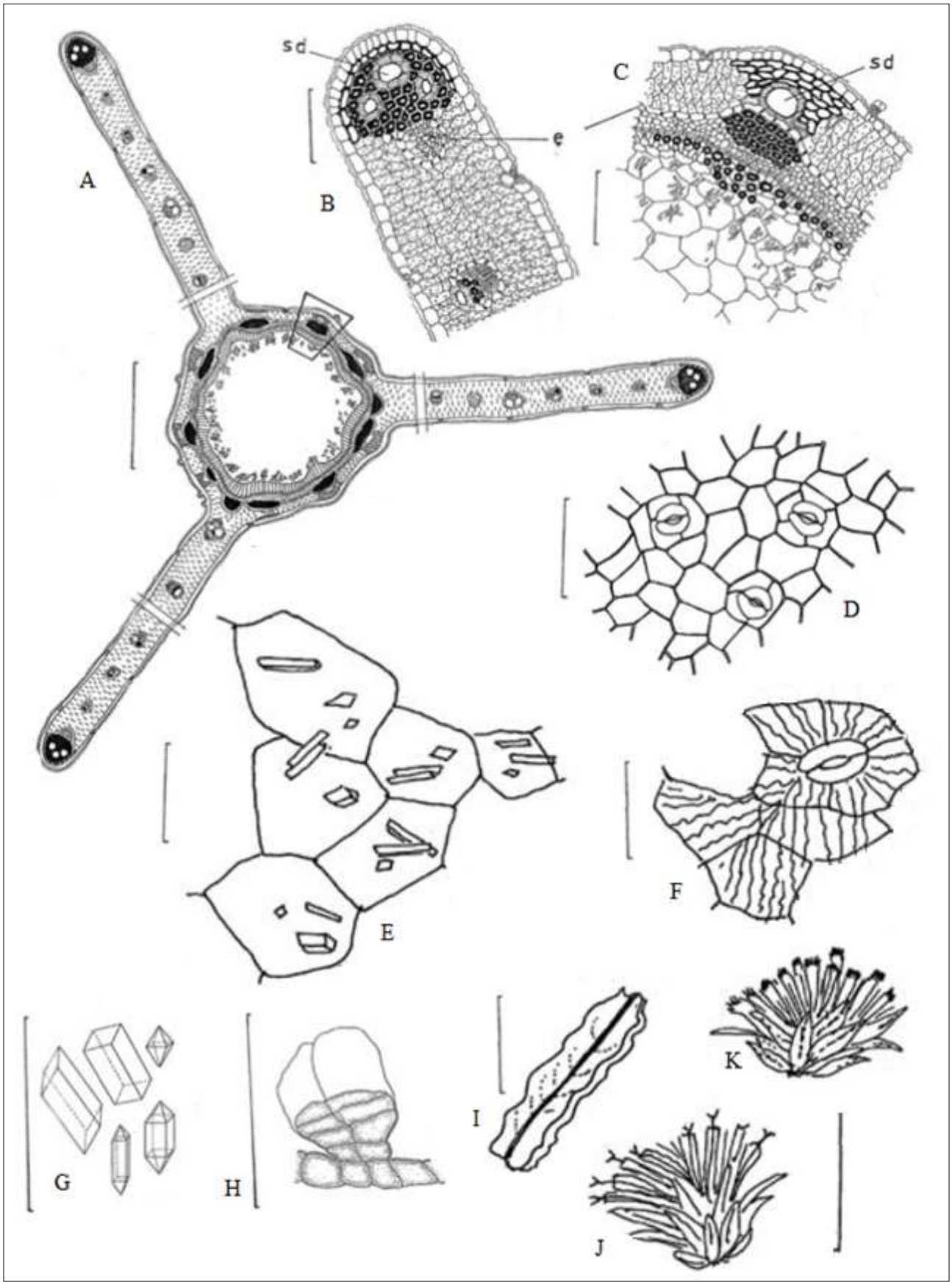


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Baccharis trimera* (Less.) DC.

As escalas correspondem: em A a 500 µm; em B, C, D e E a 100 µm; em F, G e H a 50 µm; em I a 5 cm; em J e K a 3 mm.

A. esquema representativo do caule com três alas, em secção transversal. **B.** detalhe da margem da ala; endoderme (e); canal secretor (sd). **C.** detalhe de uma porção do caule em secção transversal, indicado em A; endoderme (e); canal

secretor (sd). **D.** detalhe da epiderme da ala com estômatos anomocíticos e anisocíticos. **E**. porção de parênquima medular com cristais. **F**. fragmento de epiderme da ala em vista frontal, com cutícula estriada. G. cristais de oxalato de cálcio prismáticos e piramidais. H. tricoma glandular. I. fragmento de caule alado. J. capítulo com flores pistiladas. K. capítulo com flores estaminadas.

CÁSCARA-SAGRADA, casca
Rhamni purshianae cortex

A droga vegetal é constituída de cascas secas de caules e ramos de *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray (syn. *Rhamnus purshiana* DC.), contendo, no mínimo, 8,0% de glicosídeos hidroxiantracênicos, dos quais, no mínimo, 60,0% são cascarosídeos, expressos como cascarosídeo A ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 580,54).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Peças achatadas ou transversalmente acanaladas, ocasionalmente em rolos de comprimento variável, de 1-5 mm de espessura, de comprimento e largura variáveis, às vezes partidas em fragmentos pequenos, achatados e quase uniformes. Superfície externa quase lisa, marrom-púrpura escura, com estreitas costelas longitudinais e lenticelas transversais esparsas, alongadas e espaçadas, coberta com placas acinzentadas ou esbranquiçadas de líquens, eventualmente de musgos ou hepáticas. Superfície interna amarela a marrom-avermelhada, com estrias longitudinais. Fratura breve e granular na parte externa, algo fibrosa na parte interna.

B. Descrição microscópica

A secção transversal do córtex, apresenta externamente, periderme de coloração pardo-amarelada a pardo-avermelhada, constituída por 10 ou mais camadas de súber com células pequenas, retangulares, de paredes levemente espessas. O felogênio e a feloderme, quando presentes, formam poucas camadas de células com paredes finas e conteúdo claro. Adjacente à periderme, ocorrem externamente poucas camadas de células colenquimáticas seguidas por uma região parenquimática. O parênquima cortical apresenta células alongadas tangencialmente e cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas e cristais prismáticos. Na região mediana do córtex se encontram grupos de 20 a 50 esclereídes (células pétreas), esses tangencialmente alongados, rodeados por uma bainha parenquimática com prismas monoclínicos ou drusas de oxalato de cálcio; raios floemáticos de 1 a 4 células de largura e 15 a 25 (até mais de 30) células no comprimento, com frequência dispostos em forma diagonal ou curvada e que convergem na região do floema externo; fibras floemáticas em feixes pequenos, rodeadas por uma bainha parenquimática com prismas monoclínicos de oxalato de cálcio, estão situadas entre os raios do floema. O parênquima, com paredes de coloração parda, contém grãos de amido e cristais de oxalato de cálcio.

C. descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração marrom-amarelada a marrom-avermelhada; numerosos grupos de fibras em vista longitudinal, de 0,95 a 1,1 mm de comprimento e 16 a 24 μm de largura, cada um circundado por uma bainha parenquimática com cristais prismáticos de oxalato de cálcio; grupos densos de células pétreas, cujas células individuais são pequenas, arredondadas ou alongadas ou estreladas, de paredes espessas com pontoações simples a ramificadas e lúmen bem aparente; fibras individuais estreitas, com paredes grossas, lignificadas e não lamelares, com pontoações simples, lúmen pequeno, frequentemente inconspícuo; grupos de células pétreas rodeadas por idioblastos com cristais prismáticos de oxalato de cálcio; fragmentos de súber com coloração entre pardo-avermelhado e amarelo; fragmentos de parênquima e células de raios do floema que se colorem de pardo-avermelhado a alaranjado ao agregar uma solução alcalina forte; grãos de amido esferoidais, de até 8 μm de diâmetro; oxalato de cálcio em prismas monoclínicos ou drusas de 6 a 20 μm de

diâmetro, ocasionalmente até 45 µm de diâmetro; fragmentos de parênquima contendo grãos de amido e cristais de oxalato de cálcio; fragmentos ocasionais de hepáticas, consistindo de células arredondadas dispostas em única camada, com células irregularmente engrossadas e fragmentos de musgos constituídos por pequenas células alongadas, de paredes estreitas, geralmente em única camada ou, ocasionalmente, em duas ou três.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254}, com espessura de 250 µm.

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e água (100:17:13).

Solução amostra: pesar 0,5 g da droga vegetal e adicionar 5 mL de álcool etílico a 70% (v/v). Aquecer em banho-maria durante 15 minutos. Filtrar a amostra. Evaporar em banho-maria até secura, com temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 2 mL de álcool metílico

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

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de emodina em álcool metílico, para obter a concentração de 1 mg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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% (p/v) em álcool etílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Aquecer a cromatoplaca 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 (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.



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 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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g de droga vegetal, adicionar 100 mL de água fervente e deixar em contato durante cinco minutos. Transferir a mistura para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água destilada 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 20 mL de uma mistura de hexano e éter etílico (3:1). Repetir a extração duas vezes. Após separar as fases, reservar a fase aquosa. Lavar a fase orgânica com 5 mL de água. Descartar a fase orgânica e reunir a fase aquosa com as águas de lavagem. Extrair a fase aquosa com 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). Repetir a extração quatro vezes. Reunir as frações orgânicas obtidas com o 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 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 30 mL de uma mistura de hexano e éter etílico (3:1). Repetir a extração três vezes. 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.

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 glicosídeos hidroxiantracênicos sem cascarosídeos (HAC), em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{THAC} = \frac{\mathrm{A} \times 6{,}95}{m}$$

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 amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

Cascarosídeos

Solução amostra: diluir a fase aquosa num balão volumétrico de 50 mL com água. Utilizar 20 mL dessa solução.

Solução branco: álcool metílico.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm, utilizando a *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 cascarosídeos, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{A} \times 6{,}95}{m}$$

em que,

TC = teor de cascarosídeos % (p/p);
A = absorvância medida em 515 nm para a *Solução amostra*;
m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

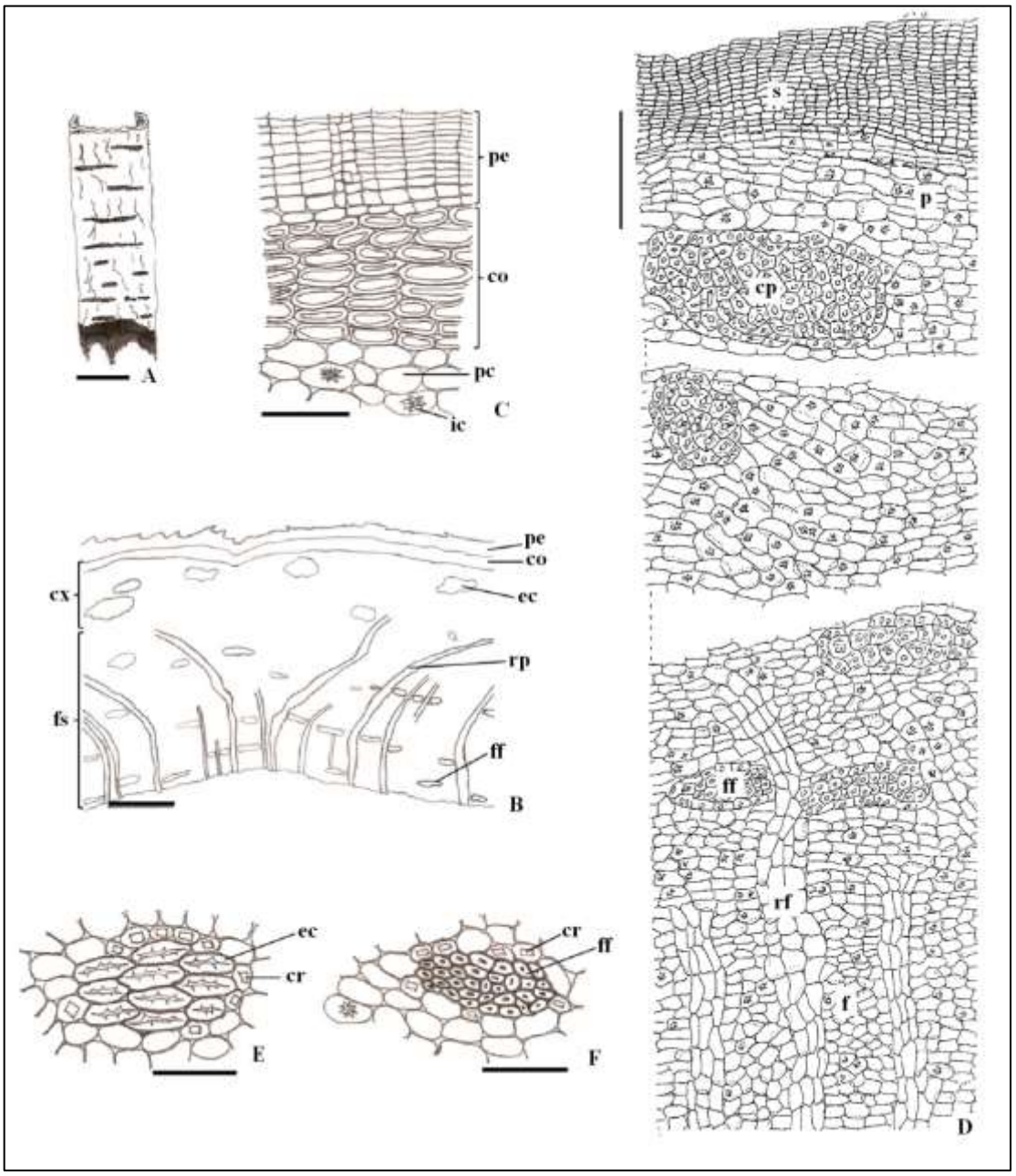


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray

As escalas correspondem em A a 1 cm; em B a 200 µm; em C a 50 µm; em D a 100 µm; em E e F a 50 µm.
A – aspecto geral da casca em vista frontal. **B** - representação esquemática da casca em secção transversal: colênquima (co); córtex (cx); esclereídes (células pétreas) (ec); fibras do floema (ff); floema secundário (fs); periderme (pe); raio parenquimático do floema (rp). **C** - detalhe da secção transversal da parte mais externa da casca: colênquima (co); parênquima cortical (pc); periderme (pe); idioblastos com drusas (ic). **D** – detalhe de toda a secção transversal da casca: esclereídes (células pétreas) (cp); floema (f); fibras do floema (ff); parênquima (p); raios do floema (rf); súber (s). **E** - detalhe do feixe de esclereídes (ec) na região cortical da casca circundado por parênquima contendo cristais prismáticos (cr) em secção transversal. **F** - detalhe do feixe de fibras (ff) na região do floema secundário circundado por parênquima contendo cristais prismáticos (cr) em secção transversal.



Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray

As escalas correspondem a 50 µm.

A - fragmento do súber em vista frontal. **B** - fragmento da secção longitudinal radial do floema secundário: elemento de tubo crivado (et); parênquima axial (pa) contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (dr) e parênquima radial (pr). **C** - fragmento da secção longitudinal tangencial do floema secundário mostrando parênquima radial (pr) e parênquima axial (pa) contendo drusa (dr). **D** - fragmento do parênquima cortical com grãos de amido (ga). **E** - fragmento do

parênquima do floema com abaulamento nas paredes celulares. **F –** fragmento de parênquima. **G** – fragmento com esclereídes (células pétreas). **H** – esclereídes agrupados. **I** – drusas. **J** – esclereídes (células pétreas) isolados (ec). **K** – grãos de amido isolados. **L** – bainha parenquimática cristalífera isolada. **M** – fibras do floema com bainhas cristalíferas. **N** – fragmento de fibra do floema com bainha cristalífera. **O** – fragmento de musgo. **P** – fragmento de hepática.

CASTANHA-DA-ÍNDIA, semente
Hippocastani semen

A droga vegetal consiste de sementes maduras e secas de *Aesculus hippocastanum* L., contendo, no mínimo, 3,0% de glicosídeos triterpênicos, calculados como escina anidra.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As sementes são duras, irregularmente ovoides ou subesféricas, de 2,5 a 4,0 cm de diâmetro, achatadas em ambos os pólos ou somente no do hilo, ou ainda achatadas de forma irregular pela dessecação. A semente fraturada apresenta um tegumento com 1,0 a 2,0 mm de espessura, liso, coriáceo, quebradiço, de coloração castanho-avermelhada ou castanho-clara, geralmente lustroso, raro opaco e com grande mancha clara correspondente ao hilo em um dos pólos. O embrião possui uma pequena radícula e dois grandes cotilédones córneos e amiláceos, de coloração castanho-clara externamente e quase branca na fratura.

B. Descrição microscópica

O tegumento da semente apresenta externamente uma cutícula espessa e lisa e uma epiderme uniestratificada de coloração castanho-amarelada, com células de paredes espessas, poligonais em vista frontal e colunares e compactas, orientadas radialmente, formando uma paliçada, em secção transversal. Abaixo se observam até quatro zonas distintas: a primeira, mais externa, é formada por algumas camadas de células colenquimáticas de coloração amarelo-acastanhada; a segunda é formada por dez ou mais camadas de células esclerenquimáticas, achatadas tangencialmente e de coloração castanho-amarelada; a terceira é formada por quatro a dez camadas de células parenquimáticas, incolores, de forma mais poliédrica e de paredes mais delgadas do que as das regiões anteriores, apresentando espaços intercelulares; a quarta região, que pode estar ausente, é formada por algumas camadas de células achatadas tangencialmente e de paredes espessadas. Delicados feixes vasculares ocorrem nesse parênquima; os elementos de vaso são estreitos e têm espessamento de parede helicoidal. Os grãos de amido são simples, esféricos, ovalados ou piriformes, medindo de 2 µm a 80 µm de diâmetro. Os grãos menores têm hilo geralmente em forma de ponto; os outros, maiores e mais numerosos, apresentam hilo em forma de cruz, ramificado ou estrelado. Ocorrem poucos grãos compostos de duas a quatro unidades.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos da testa irregulares, amarelo-dourados, com células de contornos irregulares, fortemente interligadas, cujos limites não são reconhecíveis, com prolongamentos da parede celular parecendo tubiformes, de lume estreito, semelhante ao de fibras em secção transversal; fragmentos da testa mostrando células de paredes espessadas; fragmentos da epiderme da testa, em vista frontal, com paredes periclinais uniformemente espessadas, e, quando em secção transversal, com paredes radiais e periclinal externa fortemente espessadas, lembrando uma paliçada estreita, com células castanho-avermelhadas; fragmentos de parênquima de reserva, com células achatadas a elípticas, contendo grãos de amido e gotas lipídicas; fragmentos de parênquima de reserva com porções de feixes vasculares; abundantes grãos de amido, isolados ou agrupados, de diferentes tamanhos e formas, conforme descrito. Quando submetido ao hidrato de cloral frio, o amido incha imediatamente. Nos fragmentos de tecidos cotiledonares, submetidos a longo cozimento, o

amido não perde o caráter pegajoso característico. Nesses tecidos, gotas lipídicas incolores são observadas tanto no interior das células quanto espalhadas ao redor dos fragmentos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

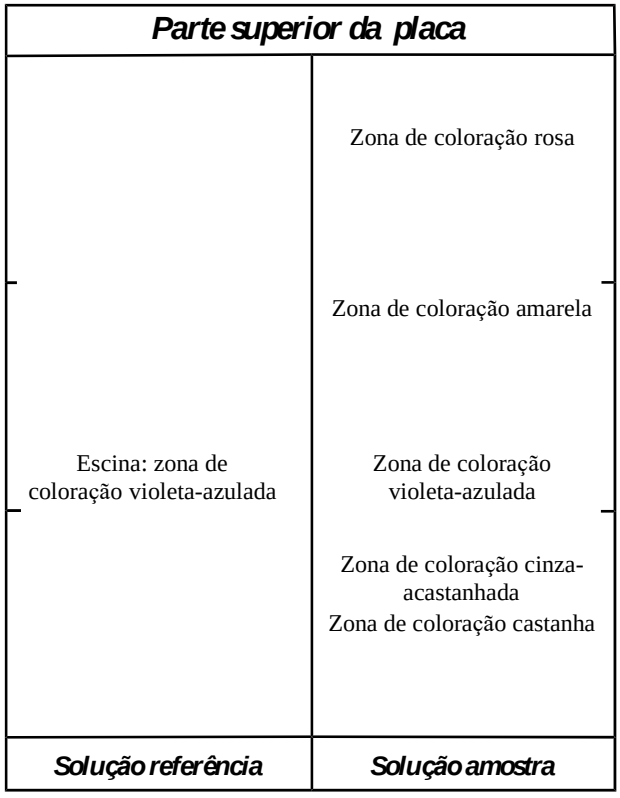
Fase móvel: camada superior da mistura de álcool butílico, água e ácido acético glacial (50:40:10).

Solução amostra: aquecer 1 g da droga pulverizada com 10 mL de álcool etílico a 70% (v/v), sob refluxo, por 15 minutos. Esfriar e filtrar.

Solução referência: dissolver 10 mg de escina em 1 mL de álcool etílico a 70% (v/v).

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. 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.



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 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.

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

Escina

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: transferir 1 g de droga pulverizada para balão de 250 mL, e adicionar 100 mL de álcool metílico a 65% (v/v). Pesar o conjunto, com exatidão, e aquecê-lo, sob refluxo, em banho-maria por 30 minutos. Esfriar, completar até o peso inicial com álcool metílico a 65% (v/v). Filtrar. Evaporar 30 mL do filtrado até secura em balão de 100 mL, sob pressão reduzida. Dissolver o resíduo em 20 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. Extrair com mistura de 20 mL de álcool *n*-propílico e 50 mL de clorofórmio, agitar, energicamente, durante dois minutos. Separar a fase orgânica inferior. Adicionar à fase remanescente no funil, 30 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*, e extrair com mistura de 20 mL de álcool *n*-propílico e 50 mL de clorofórmio. Agitar, energicamente, durante dois minutos. Separar a fase inferior e reuni-la à fase inferior da extração anterior. Evaporar as soluções reunidas, sob pressão reduzida, até secura. Lavar o resíduo com quatro porções de 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Filtrar a fase etérea. Lavar o filtro com 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Descartar o filtrado. Eliminar o éter etílico remanescente no filtro e no balão. Lavar o filtro e o balão contendo o resíduo, com ácido acético glacial transferindo para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com ácido acético glacial e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 2 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio e adicionar 4 mL de cloreto férrico ácido SR. Homogeneizar.

Solução branco: transferir 2 mL de ácido acético glacial para tubo de ensaio e adicionar 4 mL de cloreto férrico ácido SR. Homogeneizar.

Procedimento: aquecer os tubos de ensaio, em banho-maria, a 60 °C durante 25 minutos. Resfriar à temperatura ambiente e medir a absorvância em 540 nm utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular teor de escina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TE} = \frac{\mathrm{A} \times 8{,}333}{m \times 60}$$

em que,

TE = teor de escina % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando o teor de água determinado;
60 = coeficiente de absorção específica.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

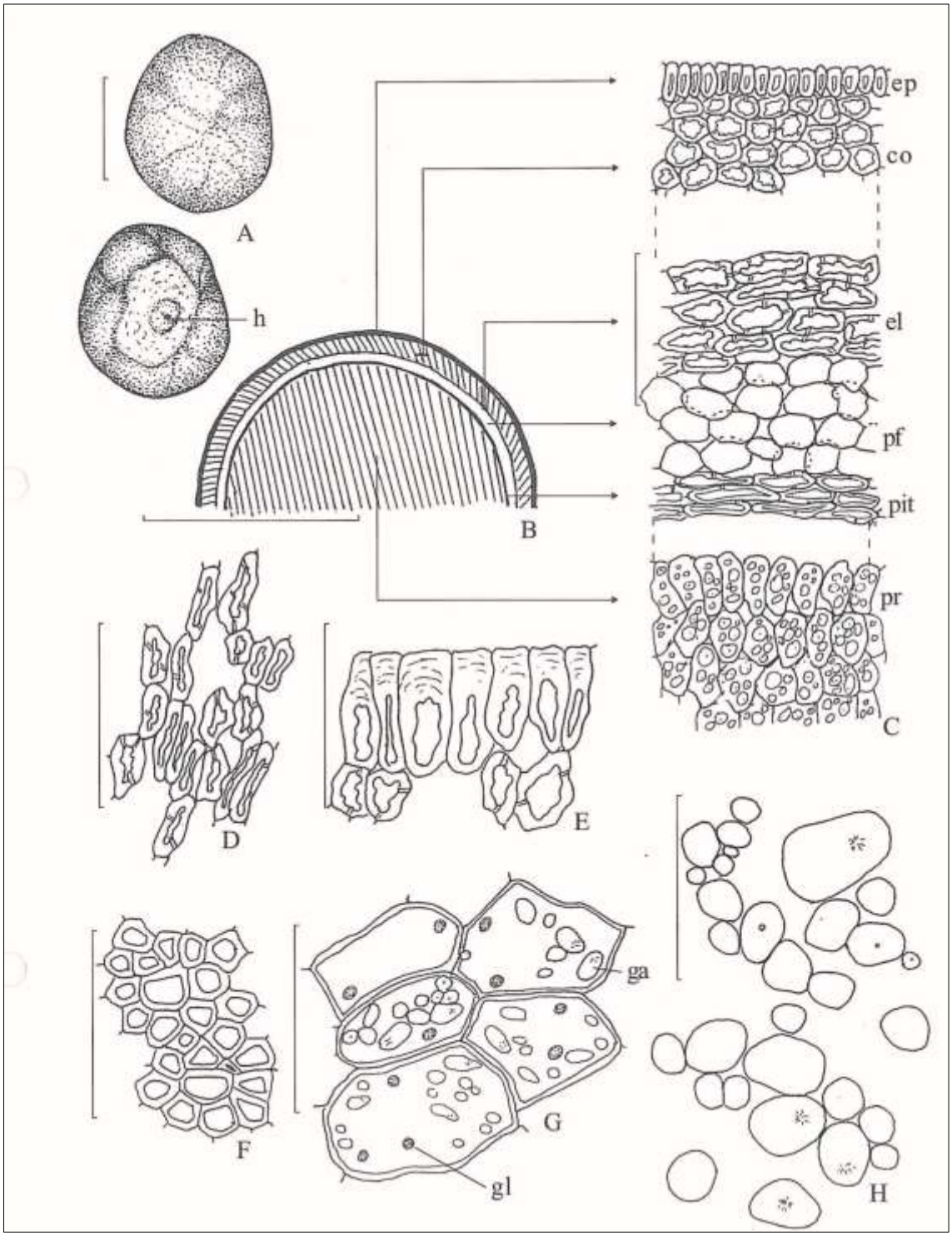


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Aesculus hippocastanum* L.

As escalas correspondem em A e B a 0,5 cm, em C a 300 µm, em D a G a 100 µm e em H a 50 µm.
A. representações esquemáticas da semente, em vista abaxial e em vista adaxial, mostrando a região do hilo; hilo (h). **B**. representação esquemática da semente, em secção transversal. **C**. detalhes da semente, em secção transversal, conforme

mostrado em **B;** colênquima (co); esclerênquima (el); epiderme (ep); parênquima fundamental (pf); parênquima interno da testa, com paredes celulares espessadas (pit); parênquima de reserva do cotilédone (pr). **D**. detalhe da epiderme do tegumento da semente em vista frontal. **E**. detalhe da epiderme da testa, em secção transversal. **F**. células esclerenquimáticas, em secção transversal. **G**. células do parênquima de reserva cotiledonar; grão de amido (ga); gota lipídica (gl). **H**. grãos de amido.

CENTELA, folha
Centellae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Centella asiatica* (L.) Urb., contendo, no mínimo, 2,0% de asiaticosídeo, em relação ao material dessecado ($C_{48}H_{78}O_{19}$, 959,12).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As lâminas foliares são membranáceas, raramente papiráceas, 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 ovalada 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 a 7 cm de comprimento e 1 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.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, as epidermes mostram células poligonais de paredes retas a curvas, estômatos projetados, paracíticos, raros anisocíticos, cutícula estriada, tricomas simples, unisseriados, retorcidos, formados por duas a cinco células, geralmente três, escassos na face adaxial. Hidatódios ocorrem na margem foliar. Em secção transversal, as epidermes mostram células retangulares achatadas, alternadas com células quadrangulares papilosas; a projeção dos estômatos é mais evidente e a cutícula é fina. O mesofilo é dorsiventral, com uma a três camadas de parênquima paliçádico frouxo e parênquima esponjoso ocupando mais da metade do mesofilo, formado por células oblongas no sentido horizontal; nesses parênquimas ocorrem drusas de oxalato de cálcio. Na nervura mediana, observam-se, cerca de dois canais secretores, dispostos na região do parênquima fundamental, um voltado para a face adaxial e outro para a abaxial, próximos ao sistema vascular; o colênquima é lacunar e formado por uma a três camadas mais evidentes na face adaxial. O sistema vascular é colateral, em arco aberto. 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. A epiderme é formada por células quadrangulares, algo papilosas, com estômatos paracíticos e tricomas simples, iguais aos da lâmina foliar; a cutícula é fina e estriada. O colênquima é angular, contínuo, seguido de um clorênquima, contendo sete feixes vasculares colaterais, dispostos em círculo, separados por largas faixas de parênquima fundamental. O floema pode apresentar células amilíferas, sendo sempre acompanhado de uma calota de fibras. Canais secretores ocorrem internamente ao colênquima, outros aproximadamente equidistantes dos feixes vasculares e da epiderme, dois opostos entre si, em um mesmo feixe vascular. No parênquima fundamental encontram-se drusas de oxalato de cálcio.

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 com tricomas unisseriados ou porções deles; fragmentos de parênquima com drusas de oxalato de cálcio; drusas de oxalato de cálcio isoladas; fragmentos de epiderme com cutícula estriada; fragmentos de epiderme com estômatos paracíticos e cutícula estriada; raros fragmentos de células epidérmicas com estômatos anisocíticos; fragmentos com aréolas e mais raro com hidatódios; fragmentos de lâmina, em secção transversal, mostrando estômatos projetados; fragmentos de parênquima frouxo; fragmentos com canal secretor; fragmentos de parênquima do pecíolo com porções de colênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

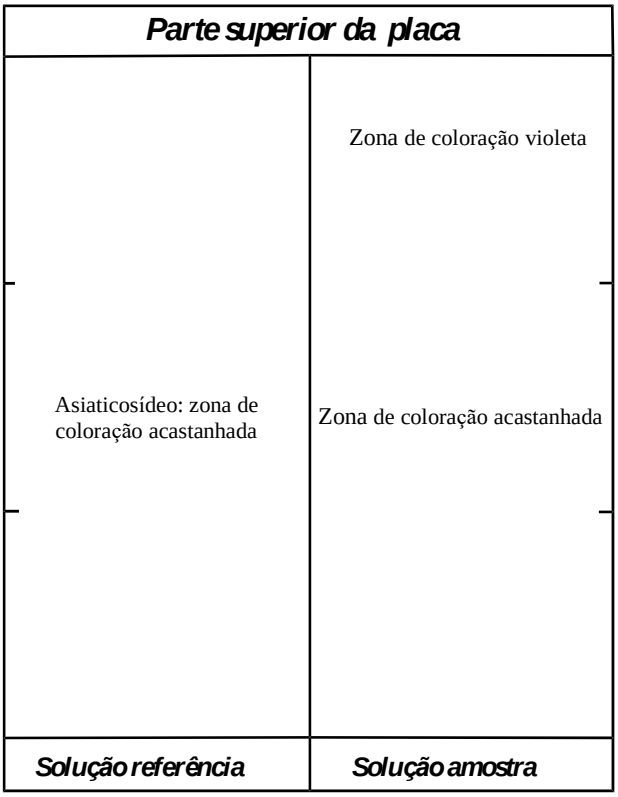
Fase móvel: clorofórmio, ácido acético glacial, álcool metílico e água (60:32:12:8).

Solução amostra: ferver 3 g da amostra (355 µm) em 30 mL de mistura de álcool etílico e água (1:1). Filtrar e concentrar até secura. Retomar em 0,5 mL de álcool metílico.

Solução referência: dissolver 1 mg de asiaticosídeo em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e secar em capela por cinco minutos. Nebulizar com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C a 105 °C durante 10 minutos. A seguir, Nebulizar novamente com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C a 105 °C por 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.



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 11,0%.

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

Índice de espuma (5.4.1.8). Determinar em 1 g da droga pulverizada, transferir para tubo de ensaio e ferver por dois minutos. Utilizar 100 mL de água destilada. No máximo 100.

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

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): ácido fosfórico a 0,5% (v/v).

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
0 – 40	25 → 50	75 → 50	gradiente linear

Solução amostra: extrair 5,0 g da droga seca em pó com 150 mL de álcool metílico em aparelho de Soxhlet durante quatro 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, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver 30 mg de asiaticosídeo em 5 mL de álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (2): diluir a *Solução referência (1)* em álcool metílico de modo a obter solução a 80% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (3): diluir a *Solução referência (1)* em álcool metílico de modo a obter solução a 60% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (4): diluir a *Solução referência (1)* em álcool metílico de modo a obter solução a 40% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (5): diluir a *Solução referência (1)* em álcool metílico de modo a obter solução a 20% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência (1)*; 10 µL da *Solução referência (2)*; 10 µL da *Solução referência (3)*; 10 µL da *Solução referência (4)* e 10 µL da *Solução referência (5)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção correspondente ao asiaticosídeo é de 30 a 40 minutos. Determinar a equação da curva analítica a partir dos valores obtidos com a *Solução referência (1)*; a *Solução referência (2)*; a *Solução referência (3)*; a *Solução referência (4)* e a *Solução referência (5)*. Calcular o teor de asiaticosídeo na amostra, a partir da determinação, por meio da equação da curva analítica, da concentração da *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

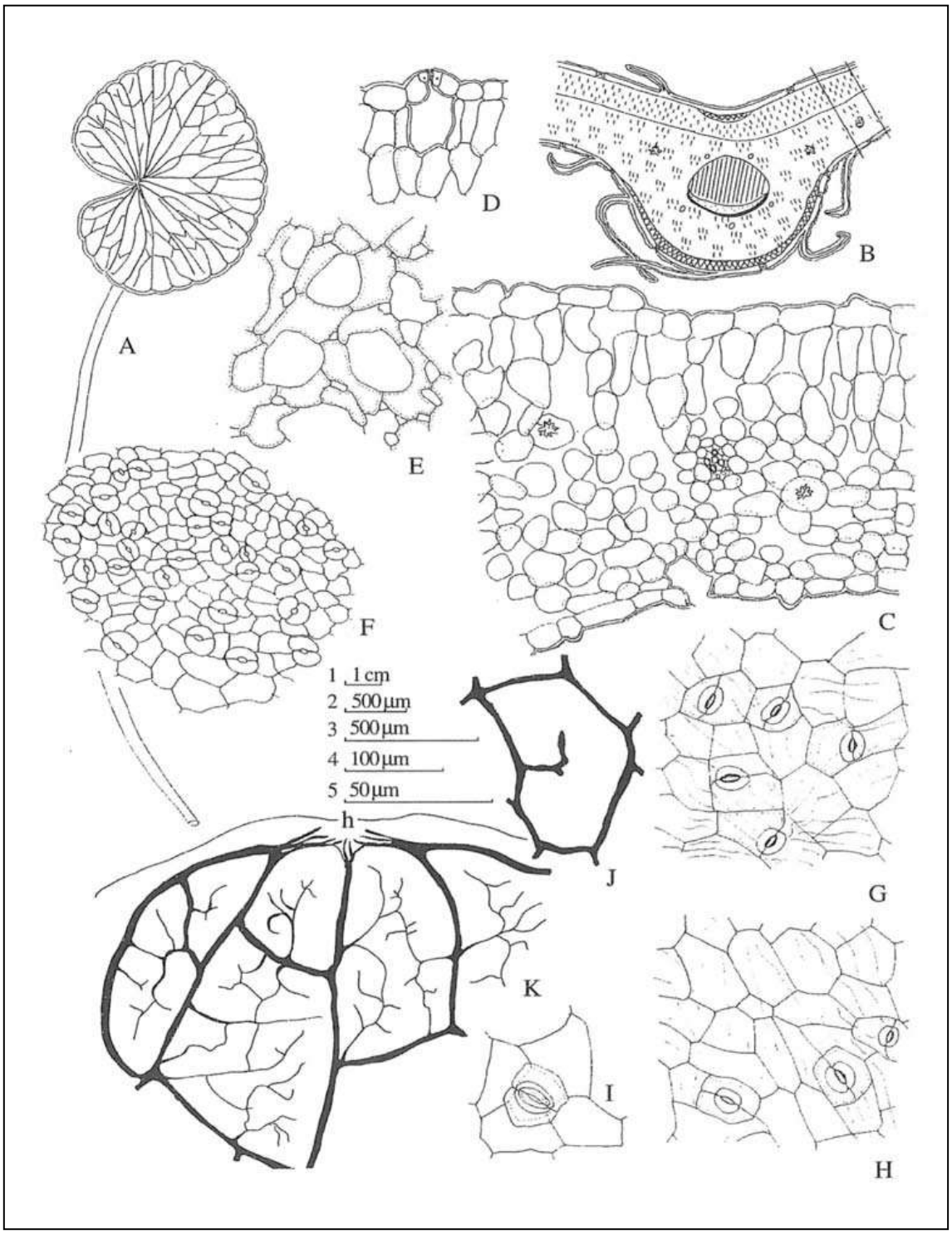


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Centella asiatica* (L.) Urb.

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 mostrando cutícula estriada. **H** – epiderme abaxial mostrando cutícula estriada. **I** – detalhe de estômato paracítico. **J** – arquitetura foliar: aréola. **K** – arquitetura foliar: margem e hidatódio.

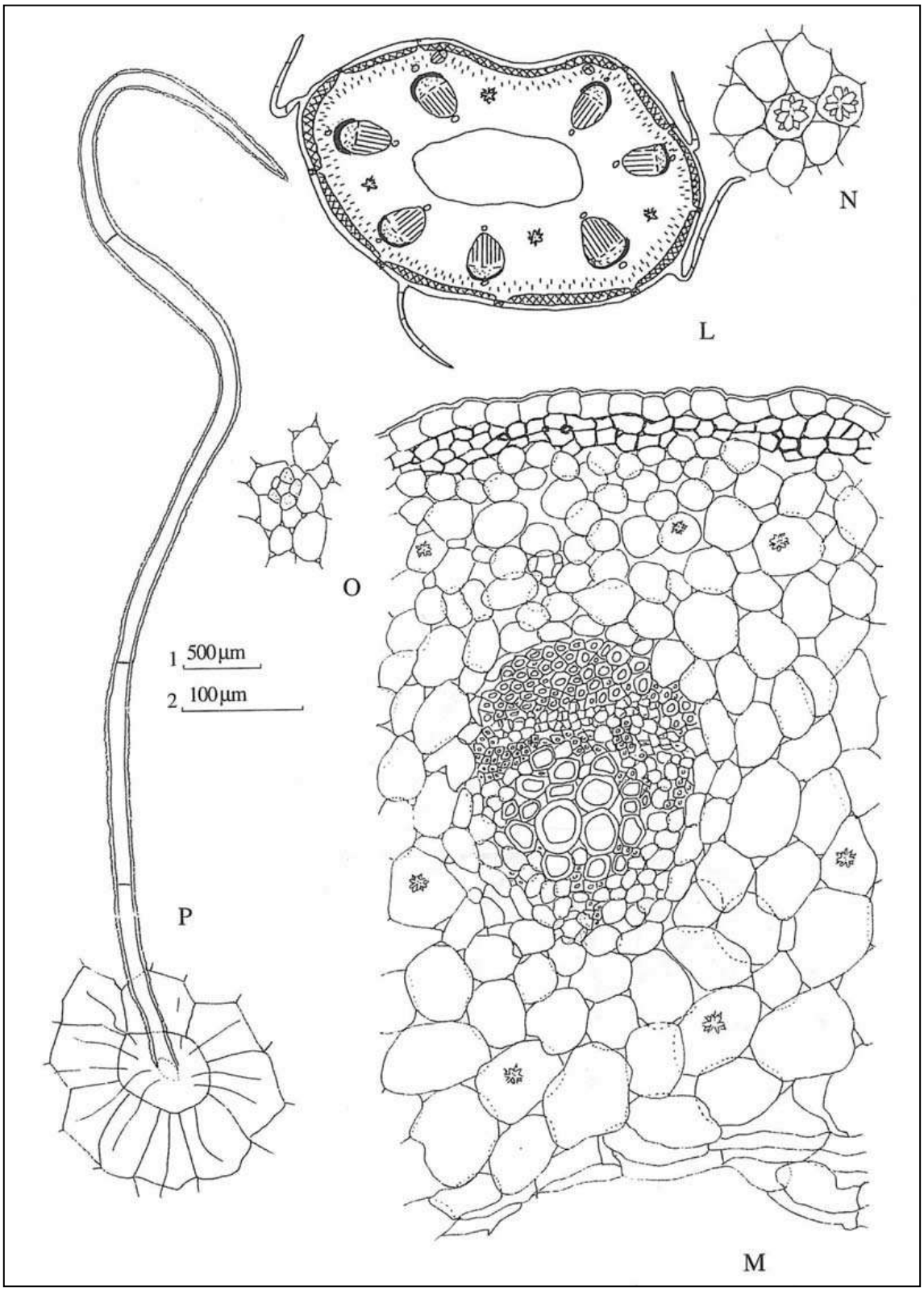


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Centella asiatica* (L.) Urb.

As escalas correspondem em **L** a 500 µm (régua 1); **M** a **P** a 100 µm (régua 2).
L – esquema do pecíolo em secção transversal. **M** – detalhe de uma porção transversal do pecíolo, mostrando um feixe vascular e diversas células contendo cristais do tipo drusa. **N** – drusas de oxalato de cálcio no interior de porção de células parenquimáticas. **O** – canal secretor. **P** – tricoma simples pluricelular e unisseriado.

CHAMBÁ, folha
Justicia pectoralis folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Justicia pectoralis* Jacq., rasuradas ou pulverizadas, contendo, no mínimo, 0,2% de cumarina ($C_9H_6O_2$, 146,15).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas inteiras, membranáceas, de coloração verde-clara. Lâmina foliar lanceolada, com ápice atenuado, base aguda e margem inteira, com tricomas em ambas as faces, medindo 2 a 6 cm de comprimento e 0,4 a 1,0 cm de largura; pecíolo de 0,2 a 0,5 mm de comprimento.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar apresenta simetria dorsiventral e é anfihipoestomática, com estômatos diacíticos. Em secção paradérmica, a face adaxial da epiderme mostra células de contorno sinuoso e tricomas tectores pluricelulares unisseriados. A face abaxial da lâmina mostra células da epiderme de contorno ondeado e tricomas glandulares formados por uma célula no pé e uma célula no pedúnculo e por uma cabeça composta por quatro células secretoras, onde se visualiza conteúdo em forma de gotas. Em secção transversal a lâmina mostra epiderme unisseriada recoberta por cutícula espessa, com células de formato quadrangular, sendo as da face abaxial menores. Em algumas células da epiderme ocorrem cistólitos em formato de bastão que possuem tamanhos variados. A região do mesofilo é recoberta por uma cutícula espessa, apresentando uma camada do parênquima paliçádico e quatro camadas de parênquima esponjoso, com espaços intercelulares. Na região da nervura central, foram observadas duas camadas de colênquima do tipo angular em ambas as faces. O feixe vascular é colateral e está disposto na forma de um arco central e nas extremidades mostra dois pequenos feixes também colaterais, voltados para a face adaxial. O pecíolo, em secção transversal, apresenta formato quase plano-convexo. A epiderme é unisseriada e recoberta por uma cutícula delgada, com tricomas tectores semelhantes aos encontrados na lâmina. Abaixo da epiderme ocorrem cinco camadas de colênquima angular na face adaxial, inclusive nas alas laterais, e duas camadas na face abaxial. O feixe vascular é do tipo colateral, ocorrendo um maior e principal, em forma de arco e três feixes menores. No feixe principal ocorrem dez raios de elementos xilemáticos.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as características estabelecidas para espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: cor verde-clara; fragmentos de epiderme mostrando estômatos diacíticos e raros tricomas tectores; cistólitos isolados e seus fragmentos.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254} (0,25 mm).

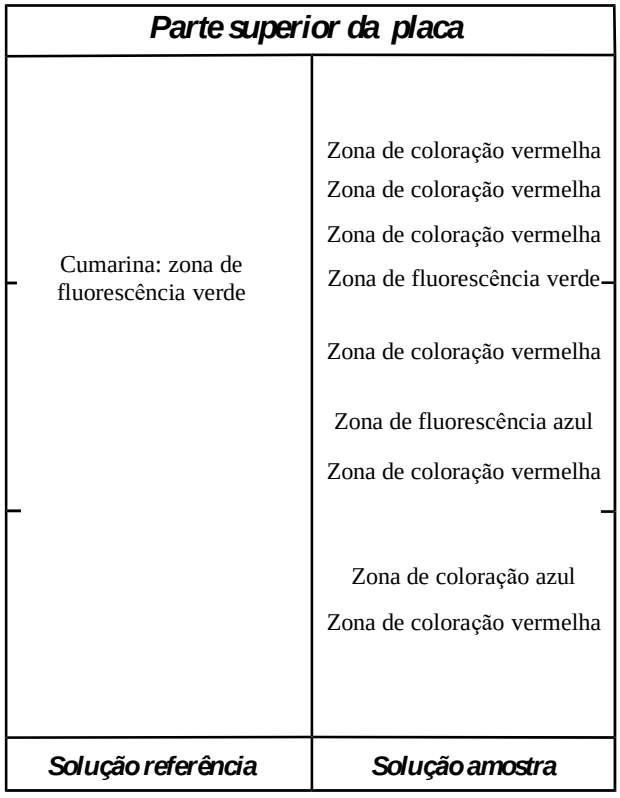
Fase móvel: mistura de éter, tolueno e saturada com ácido acético a 10% (v/v) (50:50:50).

Solução amostra: pesar cerca de 2 g de droga vegetal em erlenmeyer, adicionar 20 mL de álcool metílico e submeter à decocção em chapa aquecedora. Manter sob fervura durante cinco minutos.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. A seguir, nebulizar a placa com hidróxido de potássio a 10% (v/v). Examinar sob a luz ultravioleta a 365 nm.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. A mancha principal obtida com a *Solução amostra* corresponde em posição e cor àquela obtida com a *Solução referência*. Para a aceitação da amostra sob teste como correspondente a *Justicia pectoralis* é necessário que, além da correspondência da mancha obtida com a *Solução amostra* com a mancha relativa a *Solução referência*, sejam evidenciadas outras zonas, tais como a zona de coloração fluorescente azul e demais zonas representadas no esquema a seguir, indicando um perfil químico semelhante.



TESTES

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

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

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 14,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 1,6%.

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 277 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3,9 µm), 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 (23 °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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
0-4	80 → 75	20 → 25	gradiente linear
4-8	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
8-23	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
23-26	25	75	isocrática
26-27	25 → 80	75 → 20	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, 0,50 g da droga vegetal pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 100 mL de solução de álcool etílico a 40% (v/v). Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos, à temperatura entre 85 ºC e 90 °C. Resfriar em água corrente e filtrar o extrato em algodão para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com o líquido extrator e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 25 mg de cumarina em balão volumétrico de 50 mL com solução de álcool etílico a 40% (v/v). Transferir 0,320 mL para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente para obter solução de concentração igual a 16 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 cumarina na amostra é de aproximadamente 17,7 minutos. Calcular o teor de cumarina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 500 \times 100$$

em que,

TC = teor de cumarina em % (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 na *Solução amostra*;
m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

500 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

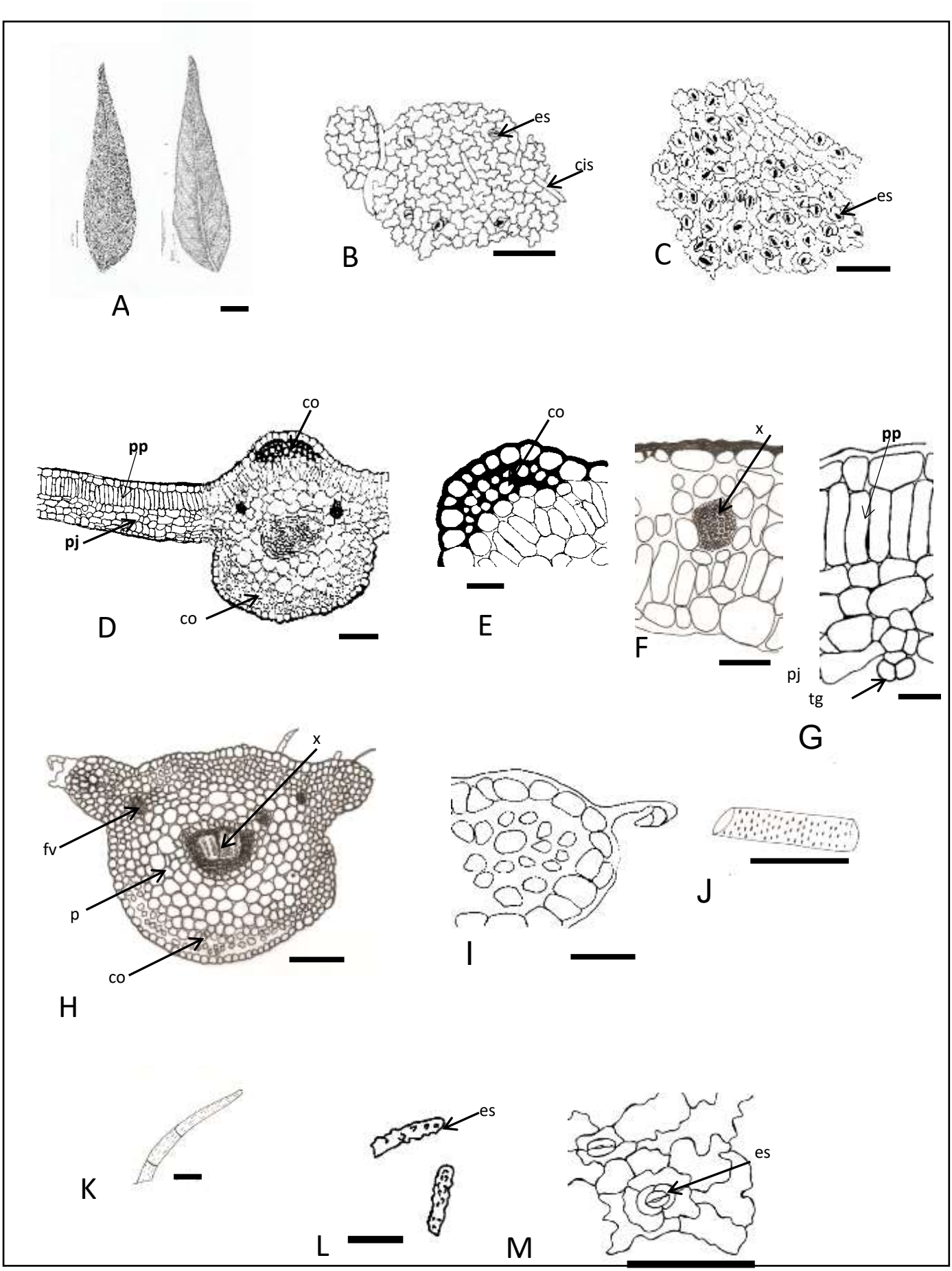

A
B
es
cis
C
es
D
co
pp
pj
co
E
co
F
x
G
pp
pj
tg
H
x
fv
p
co
I
J
K
L
es
M
es

Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Justicia pectoralis* Jacq.

As escalas correspondem em **A** a 2 cm; **D, E, F, G, H, I** a 100 µm; **B, C**, **J**, **K, L, M** a 25 µm.
A - aspecto geral da folha, em vista frontal. **B** – detalhe da secção paradérmica da folha: face adaxial, estômatos do tipo diacítico e cistólitos. **C** –detalhe da secção paradérmica da folha: face abaxial, estômatos do tipo diacítico. **D** - detalhe da secção transversal da folha: vista geral da região do mesofilo e nervura central. **E –** detalhe da secção transversal da folha: colênquima angular. **F -** detalhe da secção transversal da folha: feixe vascular do mesofilo, detalhe xilema. **G -** detalhe da secção transversal da folha: parênquima paliçádico, parênquima esponjoso e tricoma. **H -** Secção transversal do pecíolo: vista geral. **I –** detalhe da secção transversal do pecíolo: região da ala lateral. **J** - maceração do pó da folha: elemento de vaso. **K** – maceração do pó da folha: tricoma. **L** - maceração do pó da folha: cistólito. **M** – maceração do pó da folha: estômatos.

CHAPÉU-DE-COURO, folha

Echinodorus folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli contendo, no mínimo, 2,8% de derivados do ácido hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo ($C_{29}H_{36}O_{15}$, 624,59).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, coriáceas, cordiformes, com base cordada e ápice agudo a arredondado. Lâmina foliar de dimensões variadas, de 10 a 35 cm de comprimento e 20 a 25 cm de largura na porção mediana; pecíolo longo de secção transversal circular a ovalada, com expansões aladas curtas e estriações longitudinais. A nervação é do tipo campilódroma, com 12 a 14 nervuras de calibres semelhantes, que partem de um único ponto na base do limbo, proeminentes na face abaxial. Dessas partem nervuras de menor calibre, paralelas entre si, e dessas as terciárias, culminando na formação de aréolas fechadas com terminações pouco ramificadas. Tanto a lâmina quanto o pecíolo são pubescentes e relativamente ásperos pela presença de tricomas estrelados. Dutos secretores translúcidos são abundantes por toda a lâmina foliar.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar apresenta simetria dorsiventral e é anfiestomática, com estômatos paralelocíticos. Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são retas a sinuosas. Sobre as nervuras ocorrem tricomas tectores pluricelulares estrelados. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula delgada, com papilas pouco evidentes. O mesofilo é formado por uma camada de parênquima paliçádico e várias de parênquima esponjoso com expansões braciformes. No aerênquima ocorrem trabéculas de células braciformes com reentrâncias espessadas, permitindo a formação de espaços intercelulares triangulares. Dutos secretores estão distribuídos por todo o aerênquima. Nos feixes vasculares do mesofilo ocorrem calotas polares esclerenquimáticas e externamente uma bainha parenquimática. Na nervura principal ocorrem entre oito e onze feixes vasculares, acompanhados de fibras e de bainha parenquimática. O parênquima fundamental é braciforme. O pecíolo, em vista frontal, apresenta células epidérmicas poliédricas, alongadas longitudinalmente. Em secção transversal, ocorrem feixes vasculares nas duas alas. O aerênquima é similar ao descrito para a nervura principal, entretanto diversas células são repletas de grãos de amido. Os feixes vasculares mais calibrosos (de um a dois) estão dispostos na região central do pecíolo, e são menos calibrosos em direção à periferia, semelhantes ao da nervura principal, mas contando com uma lacuna de protoxilema de grandes dimensões. Os feixes de menor calibre apresentam esclerênquima apenas junto ao polo floemático, enquanto que os de maior calibre mostram um anel contínuo.

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 foliar, com estômatos paralelocíticos e células epidérmicas de contorno reto a sinuoso, recobertas por cutícula com papilas; tricomas tectores estrelados com ou sem porções de epiderme; células com pequenas expansões braciformes, do parênquima esponjoso; porções de aerênquima contendo duto secretor; células braciformes com reentrâncias espessadas, que compõem as trabéculas da nervura principal e pecíolo.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (100:10:10:1).

Solução amostra: turbolisar cerca de 10 g da droga vegetal pulverizada pesada, com exatidão, em 100 mL de álcool etílico a 70% (v/v) durante 15 minutos, com intervalos de cinco minutos, em temperatura não superior a 40 °C. Filtrar, 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 lavar com 50 mL de água. Evaporar a fração obtida em rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 1 mL de álcool metílico.

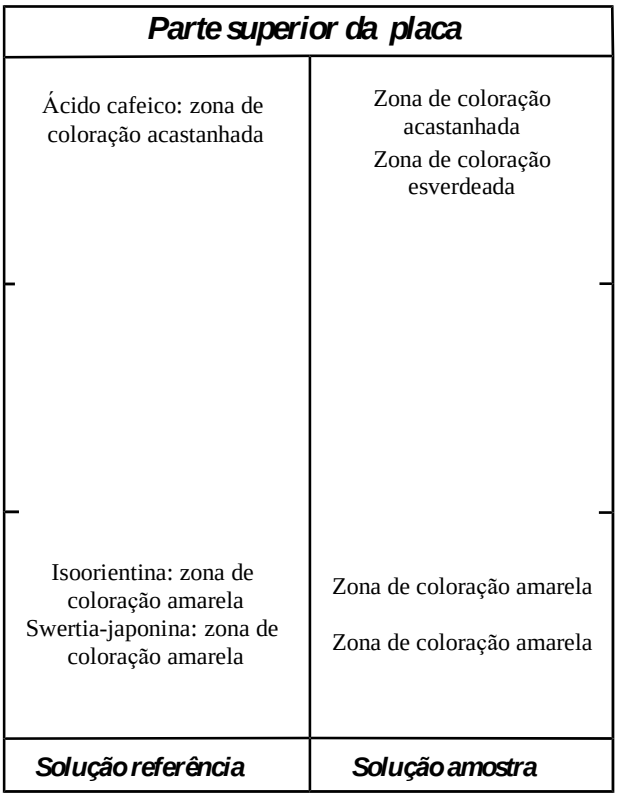
Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido cafeico e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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

Solução referência (3): pesar cerca de 1 mg de swertia-japonina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência (1)*, 5 µL da *Solução referência (2)* e 5 µL da *Solução referência (3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR e deixar secar em capela de exaustão.

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.



TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 9,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 11,0%.

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). No máximo 13,0%.

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 do ácido *o*-hidroxicinâmico

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga pulverizada (210 μm) **(5.2.11)** e adicionar 90 mL de álcool etílico a 50% (v/v) em balão de fundo redondo de 250 mL. Aquecer sob refluxo por 30 minutos. Esfriar e filtrar para balão volumétrico de 100 mL. Lavar o balão de fundo redondo e o filtro com 10 mL de álcool etílico a 50% (v/v) para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: adicionar, volumetricamente, em balão volumétrico de 10 mL, 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 *M*, 2 mL da mistura de nitrito de sódio a 20% (p/v) e molibdato de sódio a 20% (p/v) (1:1). Adicionar 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 8% (p/v), completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução branco: adicionar, volumetricamente, em balão volumétrico de 10 mL, 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 *M*, 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 8% (p/v), completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra*, imediatamente após o seu preparo, a 525 nm, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de derivados do ácido hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TA = teor de derivados do ácido hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
185 = coeficiente de absorção específica do verbascosídeo;
m = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

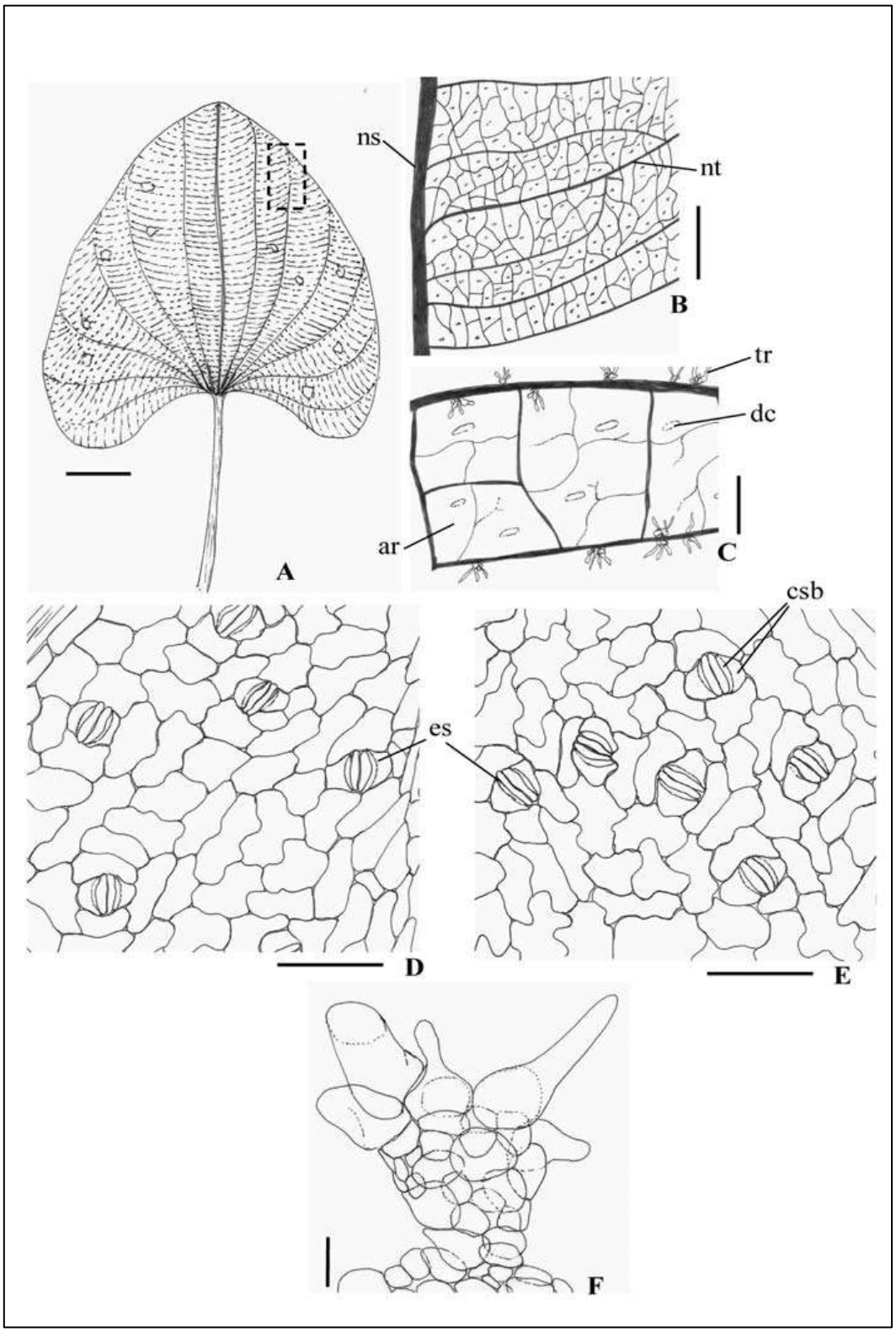


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli**

As escalas correspondem em **A** a 8 cm, em **B** a 5 mm, em **C** a 1 mm, em **D** e **E** a 100 µm, em **F** a 50 µm.
A – aspecto geral da folha, em vista frontal. **B** – detalhe parcial de nervura secundária (ns) e de nervuras terciárias (nt) destacadas em **A**. **C** – detalhe de algumas aréolas e terminações vasculares da lâmina foliar: aréola (ar); duto secretor (dc); tricoma estrelado (tr). **D** – detalhe de porção da epiderme da lâmina foliar voltada para a face adaxial, em vista frontal: estômato (es). **E** – detalhe de porção da epiderme da lâmina foliar voltada para a face abaxial, em vista frontal: células subsidiárias (csb); estômato (es). **F** – detalhe de um tricoma estrelado.

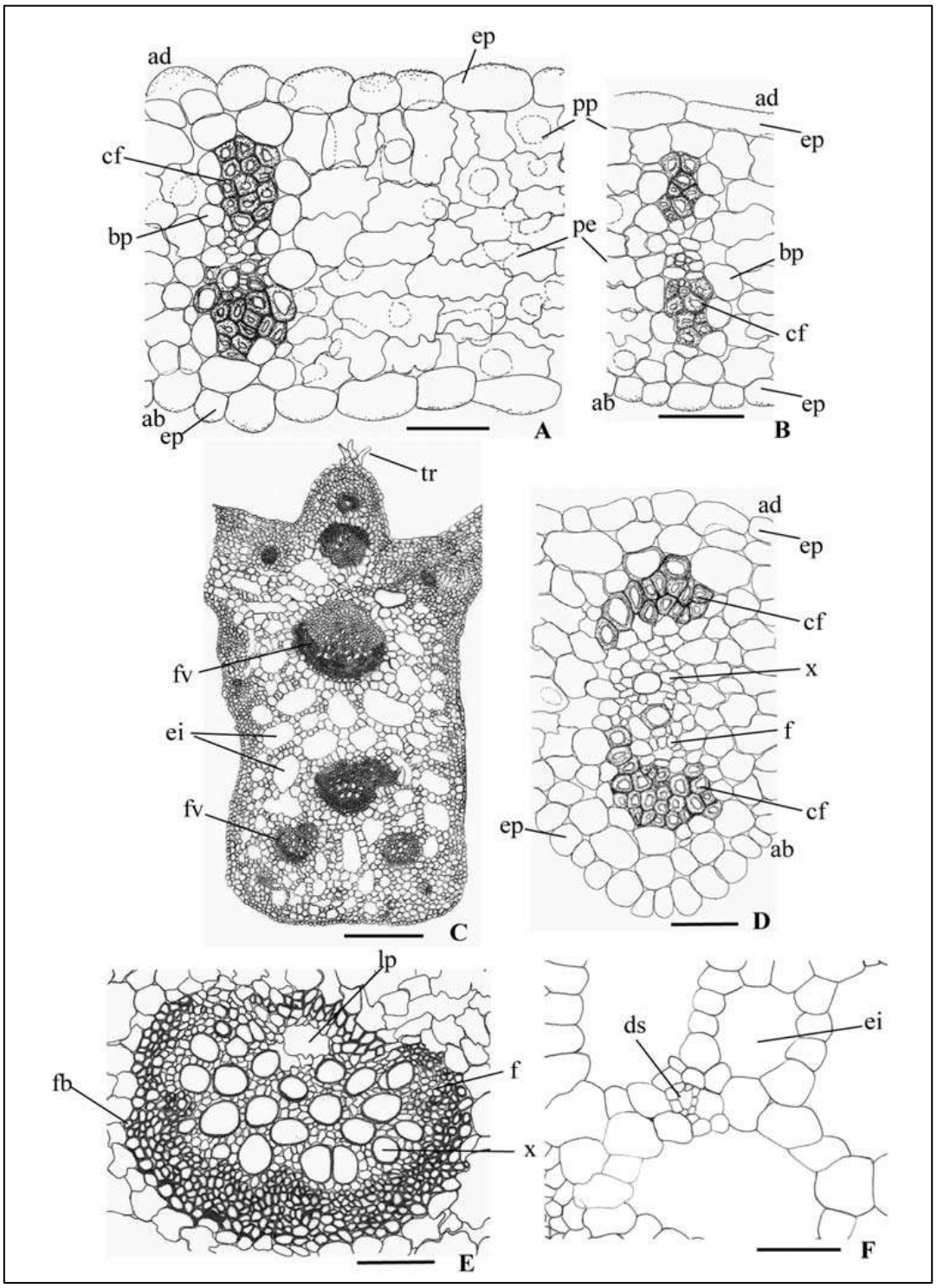


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. &Schltdl.) Micheli

As escalas correspondem em **A**, **B** e **D** a 50 μm, em **C** a 500 μm, em **E** e **F** a 100 μm.

A – detalhe de porção do mesofilo na região mediana da lâmina foliar, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); bainha parenquimática (bp); calota de fibras (cf); epiderme (ep); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp). **B** – detalhe de porção do mesofilo na região mediana da lâmina foliar, evidenciando feixe terciário, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); bainha parenquimática (bp); calota de fibras (cf); epiderme (ep); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp). **C** – detalhe da região da nervura principal, em secção transversal: espaço intercelular (ei); feixe vascular (fv); tricoma estrelado (tr). **D** – detalhe de porção do mesofilo, evidenciando um feixe vascular, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); calota de fibras (cf); epiderme (ep); floema (f); xilema (x). **E** – detalhe de um feixe vascular da nervura principal, em secção transversal: floema (f); fibroesclereídes (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **F** – detalhe de porção do aerênquima na região da nervura principal, em secção transversal: duto secretor (ds); espaço intercelular (ei).

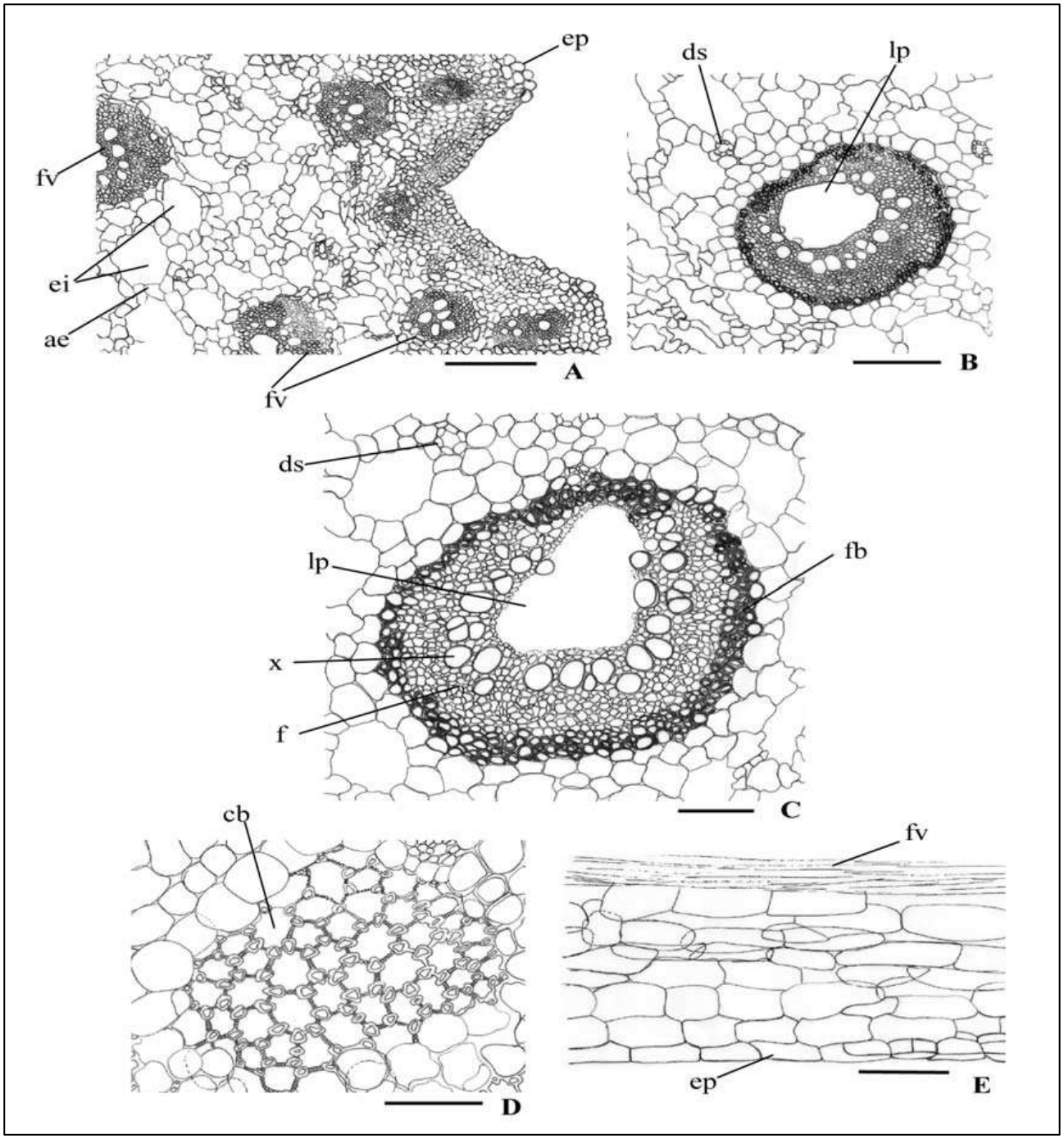


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. &Schltdl.) Micheli

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

A a **D** – secções transversais do pecíolo. **A** – detalhe de porção do pecíolo: aerênquima (ae); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); feixe vascular (fv). **B** – detalhe de porção do pecíolo, na região do aerênquima, evidenciando um feixe vascular: duto secretor (ds); lacuna do protoxilema (lp). **C** – detalhe de um feixe vascular, na região central do pecíolo: duto secretor (ds); floema (f); fibroesclereíde (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **D** – detalhe das trabéculas do pecíolo: célula braciforme (cb). **E** – detalhe parcial do aerênquima em secção longitudinal: epiderme (ep); feixe vascular (fv).

COENTRO, fruto
Coriandri fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Coriandrum sativum* L., contendo, no mínimo, 0,3% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

Os frutos possuem odor aromático e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é um diaquênio, formado de dois mericarpos, subglobular e glabro, de aproximadamente 0,2 a 0,5 cm de diâmetro, castanho, castanho-amarelado ou castanho-avermelhado; possui no ápice um estilopódio curto com dois estiletes divergentes e restos de cinco sépalas reflexas. Cada um dos mericarpos, usualmente aderidos pelas margens, possui cinco arestas longitudinais primárias, onduladas, alternadas com quatro arestas longitudinais secundárias, mais proeminentes. O fruto, em secção transversal, exibe na porção dorsal do pericarpo uma banda contínua de esclerênquima lignificado e na face comissural ou ventral dois, raramente mais, canais secretores grandes. O endosperma é oleoso e côncavo na face comissural.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o diaquênio é circular, com 10 arestas primárias onduladas, em cada uma das quais se observa um feixe vascular, e oito arestas secundárias mais proeminentes. O epicarpo é constituído por uma camada incolor de células epidérmicas de paredes finas e cutícula lisa, que podem conter ocasionalmente um ou dois cristais de oxalato de cálcio, prismáticos, pequenos. Em vista frontal, o epicarpo mostra células poligonais e estômatos anisocíticos e/ou anomocíticos, pouco frequentes. O mesocarpo é formado por três zonas distintas: externamente ocorrem algumas camadas de células grandes, de paredes delgadas, entre as quais ocorrem resquícios de canais secretores rudimentares, voltados para a face adaxial e no lado comissural são visíveis dois grandes canais secretores de forma elíptica; a porção mediana é formada por uma zona ampla e contínua de fibras fusiformes, sinuosas, de paredes espessas, pontoadas e de lúmen estreito, formando camadas entrelaçadas que externamente orientam-se longitudinalmente e internamente tangencialmente, formando um ângulo reto entre si; a seguir ocorrem duas ou três camadas de esclereídes grandes, poligonais ou retangulares, alargados tangencialmente, de paredes espessas, com numerosas pontoações bem evidentes, de coloração amarela, frequentemente aderidos ao endocarpo, que é formado por uma ou duas camadas de células de paredes finas, lignificadas, alongadas em vista frontal, com aspecto aparquetado (disposição em "parquet"). A semente, de forma reniforme, está coberta por um tegumento formado por uma camada de células marrons e de paredes grossas, exceto sobre a superfície comissural; o endosperma é constituído por células poligonais, de paredes espessas, contendo óleo incolor ou levemente amarelado, grãos de aleurona e pequenas drusas de oxalato de cálcio, de 3 a 10 µm de diâmetro.

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; fragmentos do endosperma e do pericarpo; fragmentos de fibras fusiformes de paredes lignificadas espessas; esclereídes agrupados; poucos fragmentos acastanhados do canal secretor; numerosos cristais de oxalato de cálcio, a maioria em rosetas agregadas; numerosas gotas de óleo; fragmentos do epicarpo com células poligonais; elementos de vaso do tipo helicoidal e parênquima do xilema.

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

Fase estacionária: sílica-gel G.

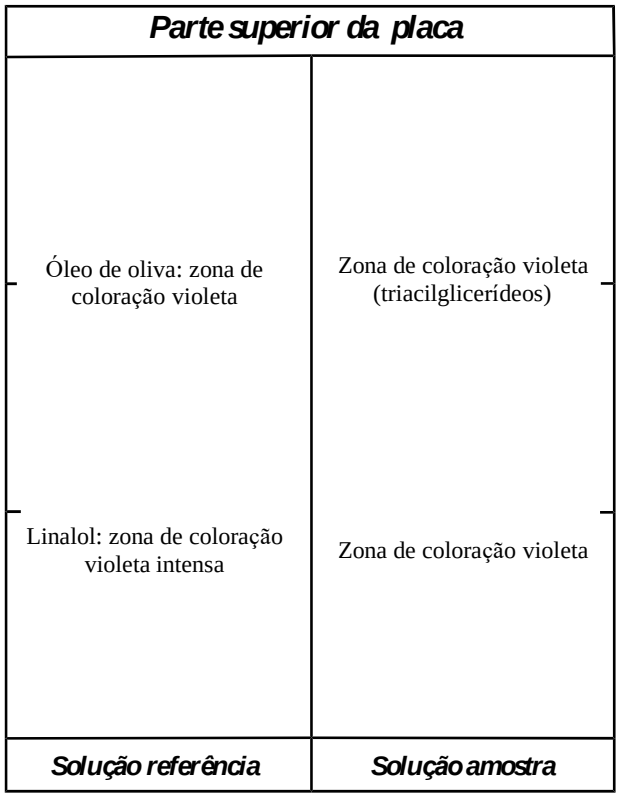
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

Solução amostra: agitar por três minutos 0,5 g da droga (500 µm) **(5.2.11)** em 5 mL de hexano. Filtrar em 2 g de sulfato de sódio anidro e recolher 1 mL para proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: diluir 15 µL de linalol e 25 µL de óleo de oliva em 5 mL de hexano.

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 anisaldeído, aquecer entre 100 ºC e 105 °C durante um a 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.



TESTES

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 5,0%.

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.

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 coentro a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 30 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.

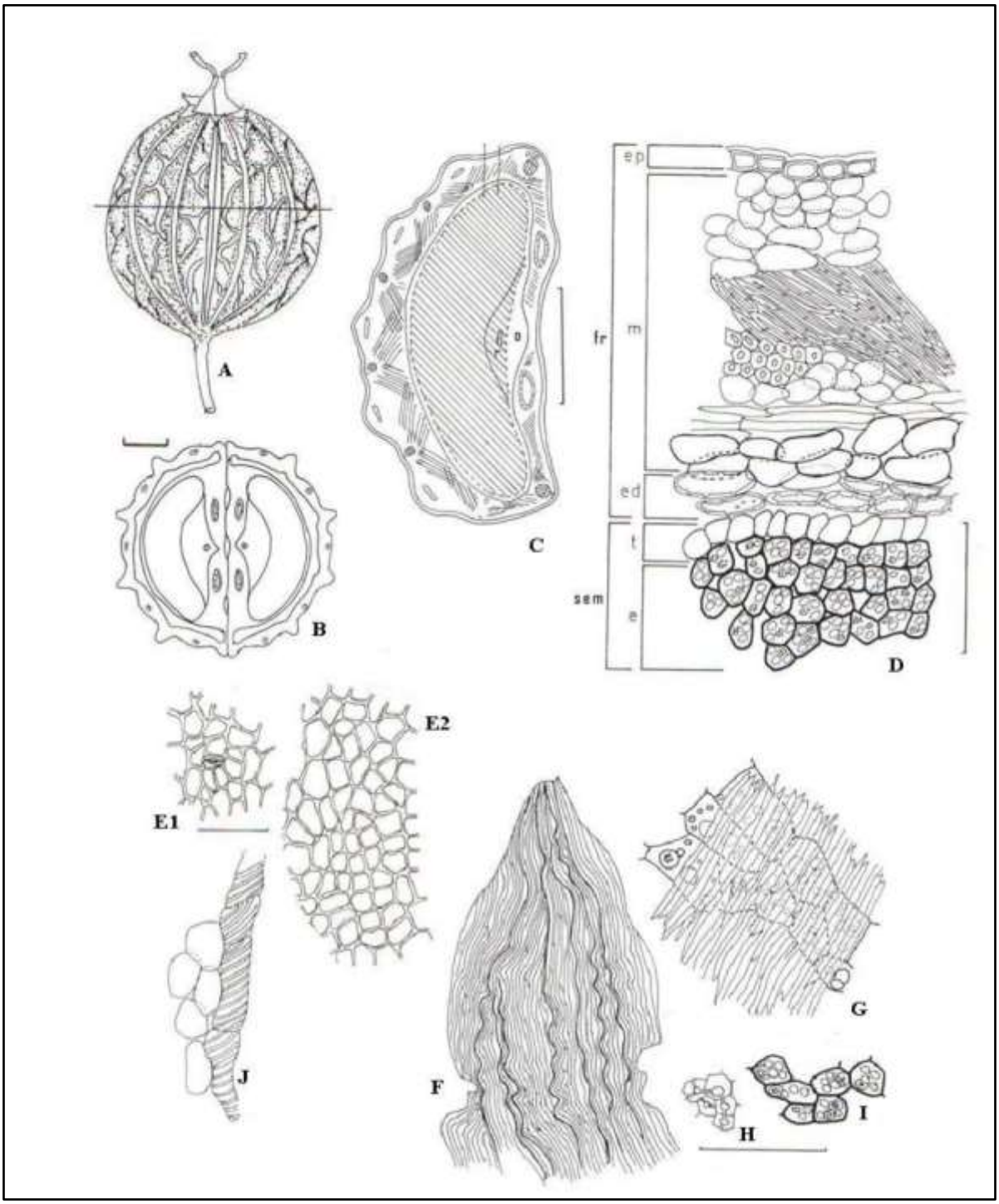


Figura 1–Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Coriandrum sativum* L.

As escalas correspondem em A e B a 1 mm, em C a 500 µm, em D a J a 100 µm.

A - aspecto geral do fruto. **B** - secção transversal do diaquênio, segundo indicado em A. **C** - esquema de um mericarpo; oco (o); rafe (r). **D** - detalhe de secção transversal em um mericarpo, segundo indicado em C; endocarpo (ed); endosperma (e); epicarpo (ep); mesocarpo (m); porção do pericarpo do fruto (fr); porção da semente (sem); tegumento (t). **E** a **J** - detalhes observados no pó. **E1** - fragmento do epicarpo com estômato. **E2** - fragmento do epicarpo em vista frontal. **F** - fragmento das fibras do mesocarpo em vista frontal. **G** - fragmento do endocarpo e endosperma em vista frontal. **H** - fragmento de fibras do mesocarpo em secção transversal. **I** - detalhe de fragmento do endosperma com gotas de óleo e cristais do tipo drusa. **J** - fragmento do xilema com elementos de vaso de espessamento helicoidal e parênquima subjacente.

CRATEGO, folha e flor
Crataegi folium cum flore

A droga vegetal consiste das sumidades floridas secas, inteiras ou rasuradas 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, 1,5% de flavonoides totais expressos como hiperosídeo ($C_{21}H_{20}O_{12}$; 464,38), em relação à droga seca.

CARACTERÍSTICAS

As folhas secas possuem odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, partidas a lobadas, com três ou mais lóbulos, alternas, pilosas e com pecíolo longo. Lâmina com base e ápice agudos, bordo serrilhado irregularmente, peninérvea, com nervuras secundárias partindo em ângulo agudo em relação à principal e terminando no bordo do limbo; nervuras de ordens superiores formando aréolas fechadas com poucas ramificações terminais. Flores pentâmeras, pequenas, longamente pedunculadas. Cálice com sépalas de ápice triangular a agudo, formando com o hipanto uma estrutura geralmente pilosa e de coloração pardo-esverdeada; sépalas com aproximadamente 2 mm de comprimento e 1 mm de largura. Corola com pétalas levemente pardas, livres entre si, de contorno arredondado e unha curta; pétalas com cerca de 4 mm comprimento e 5 mm de largura. Estames 15 a 20, com filetes e anteras expostos.

B. Descrição microscópica

Folhas hipoestomáticas, de mesofilo dorsiventral. Em vista frontal, as células epidérmicas apresentam-se com dimensões variadas e paredes anticlinais de ondeadas a sinuosas. Os estômatos são ciclocíticos, com células-guarda reniformes e pronunciado espessamento na parede anticlinal interna; sobre as células subsidiárias a cutícula é estriada concentricamente em direção às células-guarda. Em ambas as faces ocorrem tricomas unicelulares, pontiagudos, longos e de paredes espessas; em sua base ocorrem sete ou oito células epidérmicas dispostas em roseta, recobertas por pronunciado acúmulo de cutícula. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo apresenta dois a três estratos de parênquima paliçádico; o parênquima esponjoso apresenta células alongadas com braços curtos. Drusas são comuns em todo o clorênquima, enquanto que cristais prismáticos, cúbicos e rômbicos, de tamanhos variados, ocorrem nas proximidades dos feixes vasculares. A nervura principal apresenta três ou quatro estratos de colênquima anelar na face abaxial e um aglomerado de células colenquimáticas na face adaxial. O feixe vascular é colateral em arco aberto, com fibras floemáticas e xilemáticas em ambos os polos, estando o conjunto envolto por uma bainha parenquimática. Esse feixe pode ser único, ou em número de dois ou três. O pecíolo, em secção transversal, apresenta cutícula espessa e epiderme uniestratificada, seguida de cinco ou seis estratos de colênquima anelar e tecidos condutores organizados em um único feixe vascular em arco aberto. As pétalas apresentam epiderme papilosa, recoberta por cutícula ornamentada com pequenas projeções, também presentes nas sépalas e anteras. O mesofilo das pétalas é homogêneo, composto por 10 a 12 estratos de células na região central-mediana e dois ou três estratos nos bordos e terço superior. Nas anteras, o endotécio apresenta espessamentos anticlinais paralelos entre si, às vezes

entrelaçados na diagonal. Os grãos de pólen são tricolpados e ornamentados com pequenas papilas esféricas. Na face interna da base das sépalas está o nectário floral, formado por células com conteúdo denso, típicas de estruturas secretoras.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração pardacenta; fragmentos de lâminas foliares mostrando as aréolas; fragmentos de epiderme foliar com células de paredes sinuosas e sem estômatos; fragmentos de epiderme foliar com células de paredes pouco sinuosas e estômatos ciclocíticos com células subsidiárias e cutícula estriada; tricomas unicelulares com paredes espessas, fragmentados ou íntegros; fragmentos de epiderme foliar com células dispostas em roseta na base dos tricomas; fragmentos de parênquima e epiderme, em secção transversal, com bases de tricomas; fragmentos de mesofilo dorsiventral com drusas disformes e/ou cristais prismáticos acompanhando os feixes vasculares; fragmentos de pétalas com epiderme papilosa e de sépalas com tecido secretor; fragmentos de anteras com células espessadas (endotécio) e grãos de pólen ornamentados; cristais isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metil-etil-cetona, ácido fórmico anidro e água (50:30:10:10).

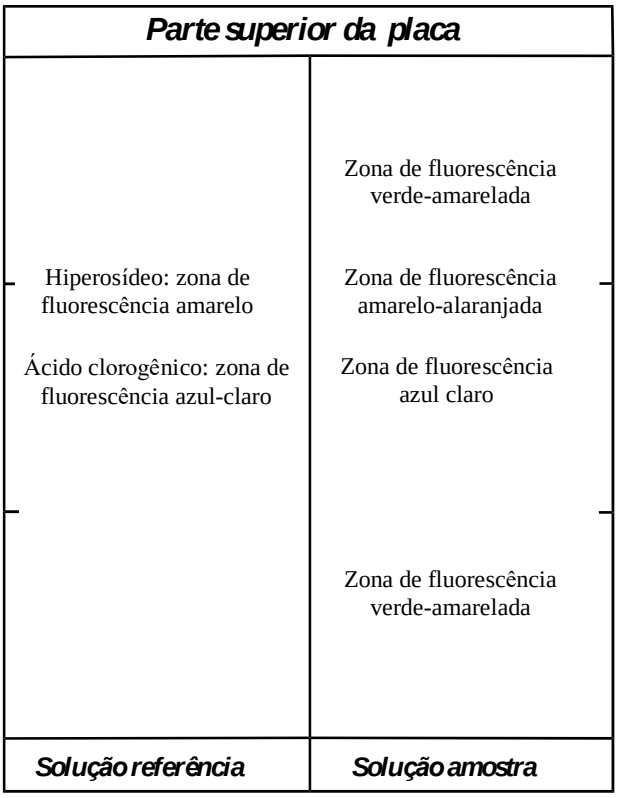
Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga pulverizada (355 μm) **(5.2.11)**, acrescentar 10 mL de álcool metílico, aquecer sob refluxo por cinco minutos, à temperatura de 65 °C. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em papel de filtro.

Solução referência (1): dissolver 1 mg de ácido clorogênico em 10 mL de álcool metílico.

Solução referência (2): dissolver 1 mg de hiperosídeo em 5 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e aquecer em estufa a temperatura entre 100 °C a 105 °C por 15 minutos, 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 durante 30 minutos e examinar a placa 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.



TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 8,0% de ramos lignificados e 2,0% de outros materiais estanhos.

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

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 da droga pulverizada (250 μm) **(5.2.11)**, transferir para erlenmeyer de 200 mL e adicionar 40 mL de álcool etílico a 60% (v/v). Aquecer em banho-maria à 60 °C durante 10 minutos com agitação frequente. Resfriar e filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Retornar o resíduo insolúvel e o algodão para o mesmo erlenmeyer,

adicionar 40 mL de álcool etílico a 60% (v/v) e levar, novamente ao banho-maria por 10 minutos com agitação frequente. Filtrar a solução em algodão para o balão volumétrico como previamente descrito. Completar o volume com álcool etílico a 60% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão de fundo redondo de 100 mL e evaporar até secura em rotaevaporador. Solubilizar o resíduo em 8 mL de mistura de solução álcool metílico com ácido acético glacial (10:100) e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Lavar o balão de fundo redondo com 3 mL da mistura de solução álcool metílico com ácido acético glacial (10:100) e transferir para o balão volumétrico como previamente descrito. Adicionar 10 mL da *Solução reagente*. Levar ao banho de gelo para resfriar, por 10 minutos. Não permitir o congelamento. Completar o volume com ácido acético anidro e homogeneizar. Colocar imediatamente em banho de gelo. Retirar 10 minutos antes da leitura em espectrofotômetro.

Solução branco: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão de fundo redondo de 100 mL e evaporar até secura em rotaevaporador. Solubilizar o resíduo em 8 mL da mistura de solução álcool metílico com ácido acético glacial (10:100) e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Lavar o balão de fundo redondo com 3 mL da mistura de solução álcool metílico com ácido acético glacial (10:100) e transferir para o balão volumétrico como previamente descrito. Adicionar 10 mL de ácido fórmico anidro. Levar ao banho de gelo para resfriar por 10 minutos. Não permitir o congelamento. Completar o volume com ácido acético anidro e homogeneizar. Colocar imediatamente em banho de gelo. Retirar 10 minutos antes da leitura em espectrofotômetro.

Solução reagente: ácido bórico a 2,5% (p/v) e ácido oxálico a 2% (p/v) em ácido fórmico anidro. Solubilizar com aquecimento, em capela de exaustão.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* após 30 minutos, no comprimento de onda de 410 nm. Calcular o teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 1{,}235}{m \times 405}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeos % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
405 = coeficiente de absorção específica do hiperosídeo;
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.

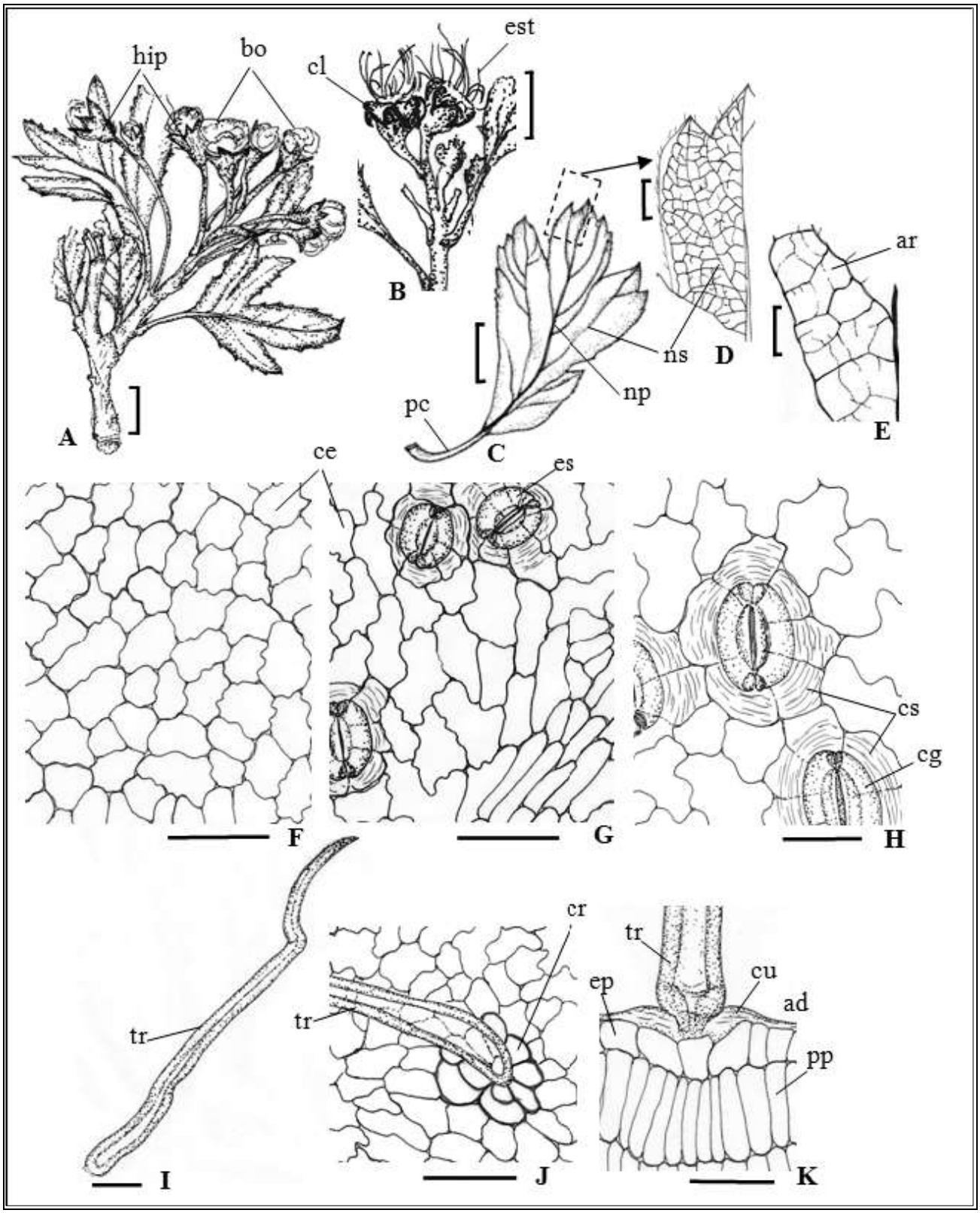


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A**, **B**, **C** a 0,5 cm; em **D** a 1 mm; em **E** a 0,5 mm; em **F**, **G**, **I** e **J** a 50 μm; em **H** e **K** a 25 μm.

A – aspecto geral de um ramo na fase de pré-antese: hipanto (hip); botão floral (bo). **B –** detalhe parcial de um ramo após a queda das corolas: cálice (cl); estames (est). **C –** aspecto geral de uma folha: pecíolo (pc); nervura principal (np); nervura secundária (ns). **D –** detalhe parcial da nervação foliar em destaque em **C**: nervura secundária (ns). **E –** detalhe parcial das aréolas e terminações vasculares: aréola (ar). **F** e **G –** vista frontal das faces adaxial e abaxial foliar, respectivamente: célula epidérmica comum (ce); estômato (es). **H –** detalhe dos estômatos: célula-guarda (cg); célula subsidiária (cs). **I –**

tricoma tector foliar: tricoma (tr). **J** e **K -** detalhes da inserção do tricoma em vista frontal e transversal, respectivamente: tricoma (tr); células em roseta (cr); epiderme (ep); cutícula (cu); face adaxial (ad); parênquima paliçádico (pp).

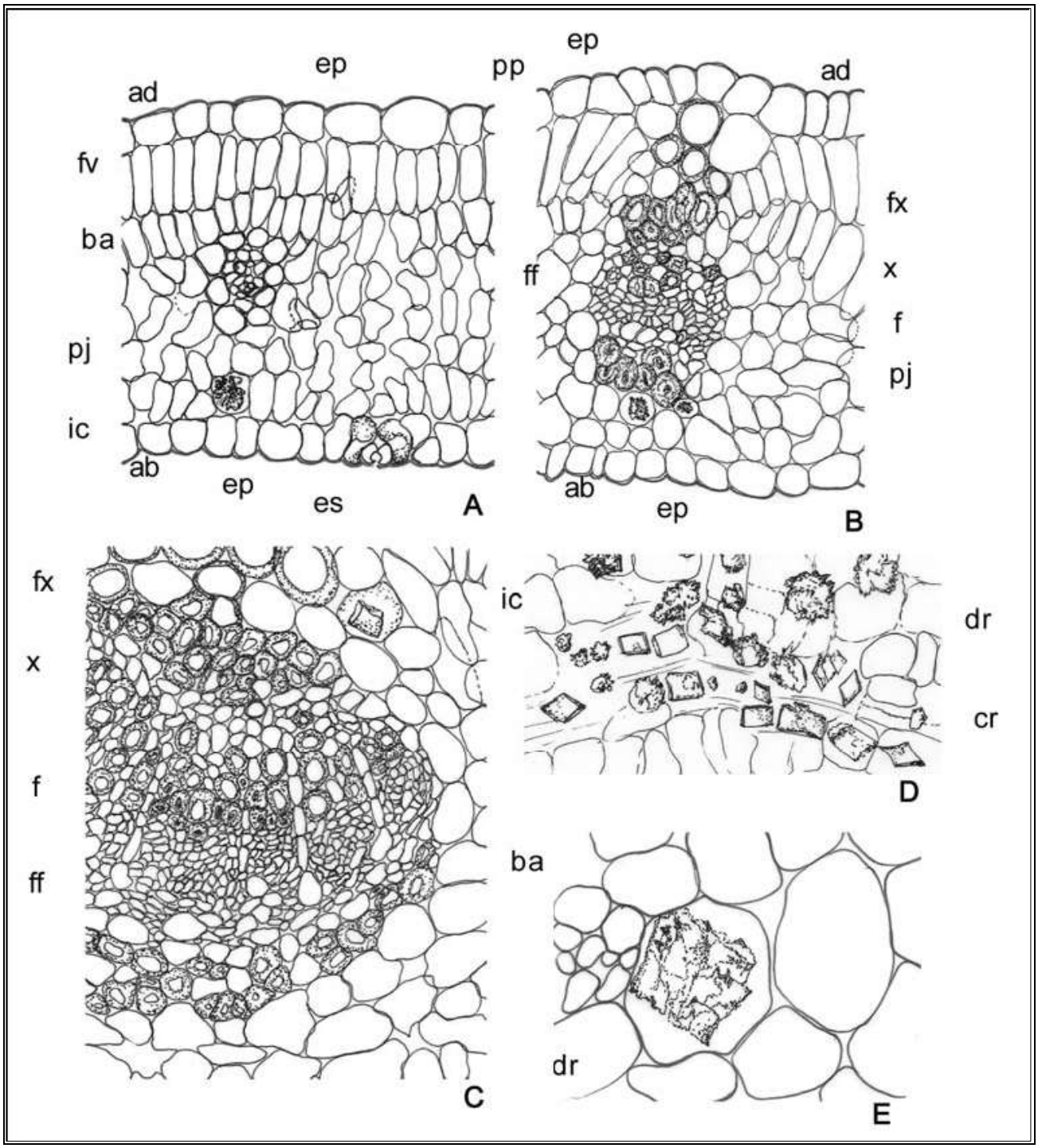


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A**, **B**, **C** e **D** a 50 μm; em **E** a 25 μm.
A – detalhe do mesofilo mediano com um feixe vascular terciário: face abaxial (ab); face adaxial (ad); feixe vascular (fv); bainha do feixe vascular (ba); parênquima esponjoso (pj); idioblasto cristalífero (ic); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); estômato (es). **B –** detalhe de um feixe vascular secundário nas proximidades do bordo foliar: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); fibras do floema (ff); fibra do xilema (fx); xilema (x); floema (f); parênquima esponjoso (pj); epiderme (ep). **C –** detalhe parcial do feixe vascular da nervura principal: fibra do xilema (fx); xilema (x); floema (f); fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic); bainha do feixe vascular (ba). **D –** fragmento do pó mostrando cristais próximos aos feixes vasculares: idioblasto cristalífero (ic); drusa (dr); cristal prismático (cr). **E –** detalhe de uma drusa em um fragmento do pó: drusa (dr).

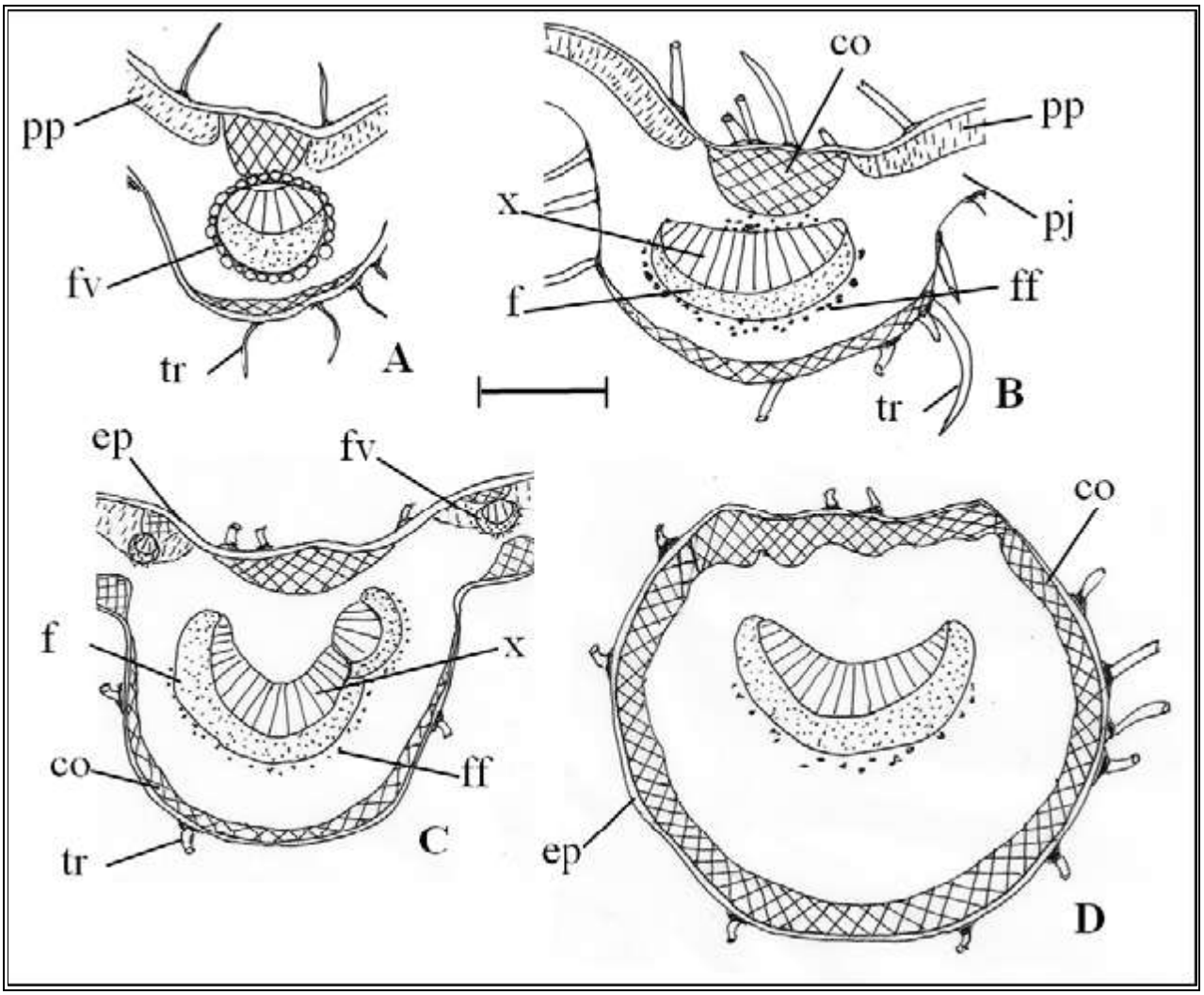


Figura 3 – Esquemas da distribuição dos tecidos na folha e no pecíolo em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A**, **B**, **C** e **D** a 250 μm.

A – região apical da nervura principal: parênquima paliçádico (pp); feixe vascular (fv); tricoma (tr). **B –** região mediana da nervura principal: xilema (x); floema (f); colênquima (co); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); fibras do floema (ff); tricoma (tr). **C –** região basal da nervura principal: epiderme (ep); feixe vascular (fv); xilema (x); floema (f); colênquima (co); fibras do floema (ff); tricoma (tr). **D –** região mediana do pecíolo: colênquima (co); epiderme (ep).

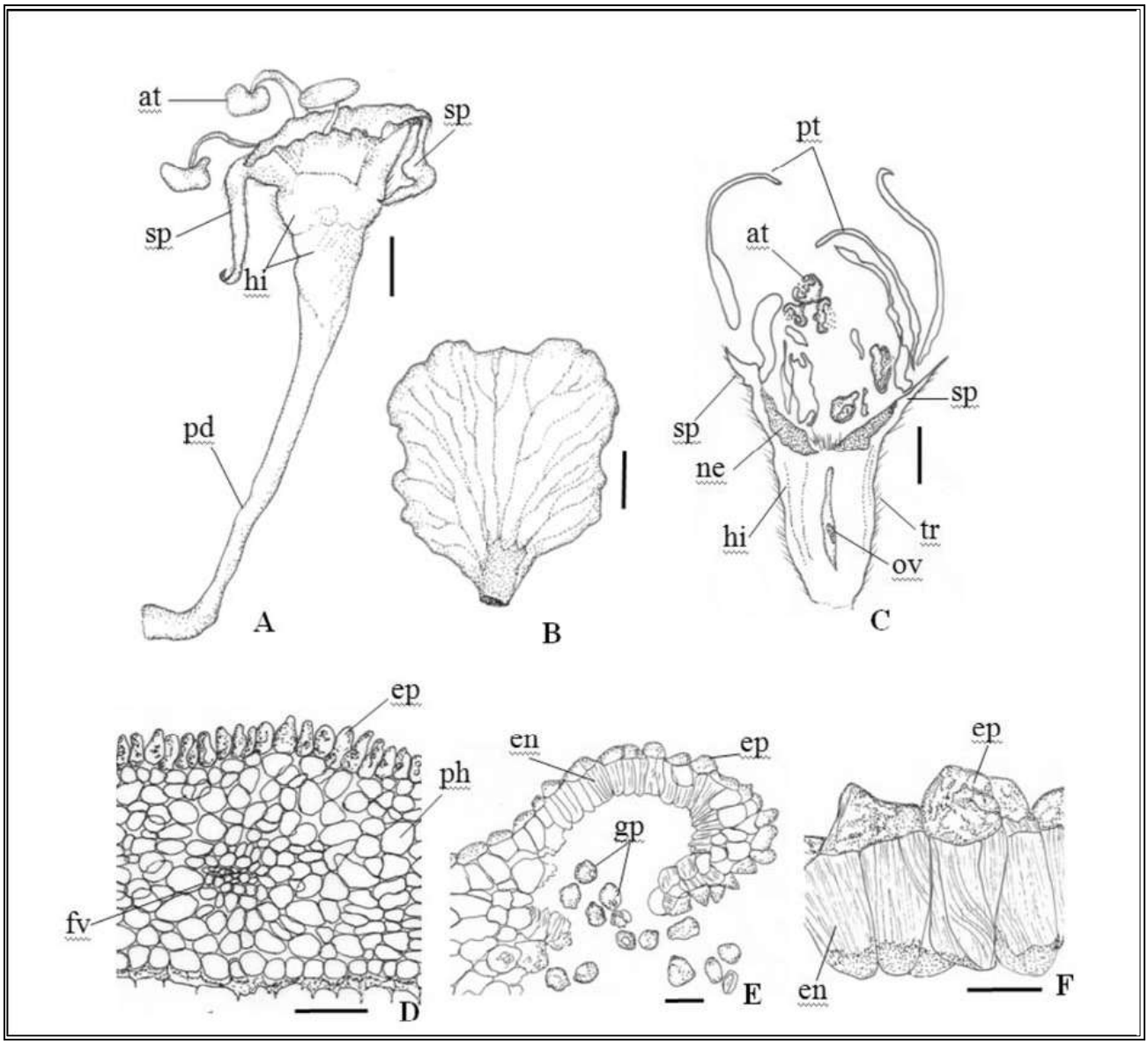


Figura 4 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó das flores em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A**, **B** e **C** a 1 mm; em **D** e **E** a 50 μm; em **F** a 25 μm.
A – aspecto geral do hipanto, pedúnculo floral, algumas sépalas e anteras: antera (at); sépala (sp); hipanto (hi); pedúnculo floral (pd). **B –** aspecto geral de uma pétala. **C –** aspecto geral de uma flor em secção longitudinal mediana: antera (at); pétala (pt); sépala (sp); nectário (ne); hipanto (hi); óvulo (ov); tricoma (tr). **D –** detalhe parcial da base da pétala em secção transversal: epiderme (ep); parênquima homogêneo (ph); feixe vascular (fv). **E** e **F –** detalhes parciais da antera e parede da teca, respectivamente, em secções transversais: endotécio (en); epiderme (ep); grão de pólen (gp).

CRAVO-DA-ÍNDIA, botão floral
Caryophylli flos

A droga vegetal consiste de botões florais secos de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, contendo, no mínimo, 15,0% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

Os botões florais possuem odor forte, aromático e característico; os botões exsudam óleo ao serem pressionados.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O botão floral tem coloração castanho-enegrecida, com 1 a 2,1 cm de comprimento e 0,2 a 0,4 cm de diâmetro na porção do botão; apresenta na sua porção inferior um hipanto subcilíndrico, de quatro lados algo achatados, que contém na região interna e superior um ovário ínfero, com dois lóculos, mostrando vários rudimentos seminais aderidos à placenta axilar. Na extremidade superior do hipanto existe um cálice com quatro sépalas divergentes, pontiagudas, espessas, com cerca de 0,3 cm de comprimento, que circundam uma região globosa formada por quatro pétalas imbricadas, membranosas, de coloração mais clara, dispostas em forma de domo, sob a qual se encontram numerosos estames recurvados para dentro, inseridos em um disco nectarífero côncavo, circundando um único estilete ereto e subulado, de cerca de 0,3 cm de comprimento.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, a epiderme do hipanto mostra células poligonais de paredes espessadas e numerosos estômatos anomocíticos, quase circulares, de 30 a 35 μm de diâmetro. Por transparência observam-se glândulas esquizolisígenas e agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusas ou cristais prismáticos. Em secção transversal, observam-se cutícula espessa e lisa, células epidérmicas tubulosas, estômatos elevados e câmara subestomática bem definida, seguidos de um parênquima com zonas distintas: zona externa, de coloração castanho-amarelada, com glândulas esquizolisígenas ovoides, de eixo radial longo, medindo até 200 μm de comprimento, distribuídas próximas umas das outras, em duas ou três fileiras, acompanhadas de agrupamentos de células contendo drusas; zona média formada por células parenquimáticas, de aspecto colenquimático, com um anel de feixes vasculares bicolaterais, arredondados, envolvidos por anel incompleto de fibras, além de fibras ocasionais isoladas ou em grupos de duas ou três células e lúmen preenchido por conteúdo castanho; feixes vasculares circundados por células parenquimáticas contendo cristais prismáticos; abaixo dos feixes ocorre um tecido parenquimático frouxo, do tipo aerênquima, seguido de um anel com cerca de 17 feixes vasculares bicolaterais menores, circundados por algumas fibras; zona central ocupada por um parênquima de preenchimento, com células contendo cristais do tipo drusa. Ocasionalmente ocorrem esclereídes ovais a subretangulares, de paredes estriadas e fortemente espessadas, apresentando numerosas pontoações simples ou ramificadas e com lúmen frequentemente preenchido com conteúdo castanho. No cálice, corola, filete e estilete também ocorrem células com cristais semelhantes aos já descritos e glândulas esquizolisígenas. A antera, em secção transversal, apresenta uma camada fibrosa de células epidérmicas alongadas tangencialmente, com espessamento lignificado nas paredes anticlinais; no ápice do conetivo ocorre uma glândula esquizolisígena. Os

grãos de pólen medem de 15 a 20 μm de diâmetro, são biconvexos, de contorno arredondado a triangular, com exina lisa. Grãos de amido estão ausentes.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-enegrecida a castanho-avermelhada; fragmentos do parênquima do hipanto com glândulas esquizolisígenas; fragmentos da epiderme do hipanto em vista frontal, com estômatos anomocíticos grandes e glândulas subjacentes; fragmentos de parênquima do hipanto com células contendo cristais do tipo drusa; fragmentos de aerênquima do hipanto; porção do hipanto, em secção transversal, mostrando cutícula espessa, epiderme e parênquima subjacente com glândulas; esclereídes do hipanto, isolados; fragmentos de camada fibrosa da antera em vista frontal; fragmentos da epiderme do filete em vista frontal, com cutícula estriada; filetes com cordão vascular central e células parenquimáticas com drusas; grãos de pólen; fibras pontiagudas com espessas paredes, associadas a células parenquimáticas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

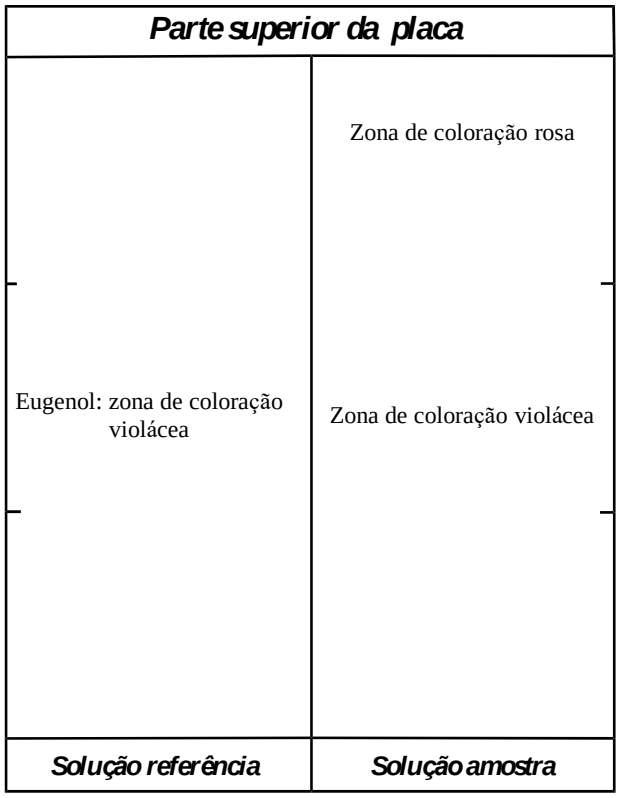
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (93:7).

Solução amostra: diluir em 1 mL de tolueno, 10 μL de óleo volátil de cravo obtido na *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais* **(5.4.1.6)**.

Solução referência: diluir em 1 mL de tolueno, 10 μL de eugenol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 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 solução de anisaldeído, 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.



TESTES

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

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 4,0% de pedúnculos, pecíolos e frutos. No máximo 2,0% de botões florais alterados. No máximo 0,5% de outros elementos estranhos. É permitida a presença de 1,0% do peso seco de pedicelos da inflorescência.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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.

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 250 mL contendo 100 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Moer 5 g de botões florais dessecados a pó junto com 5 g terra diatomácea. Do pó obtido, pesar 4 g e proceder imediatamente à determinação do óleo volátil. 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.

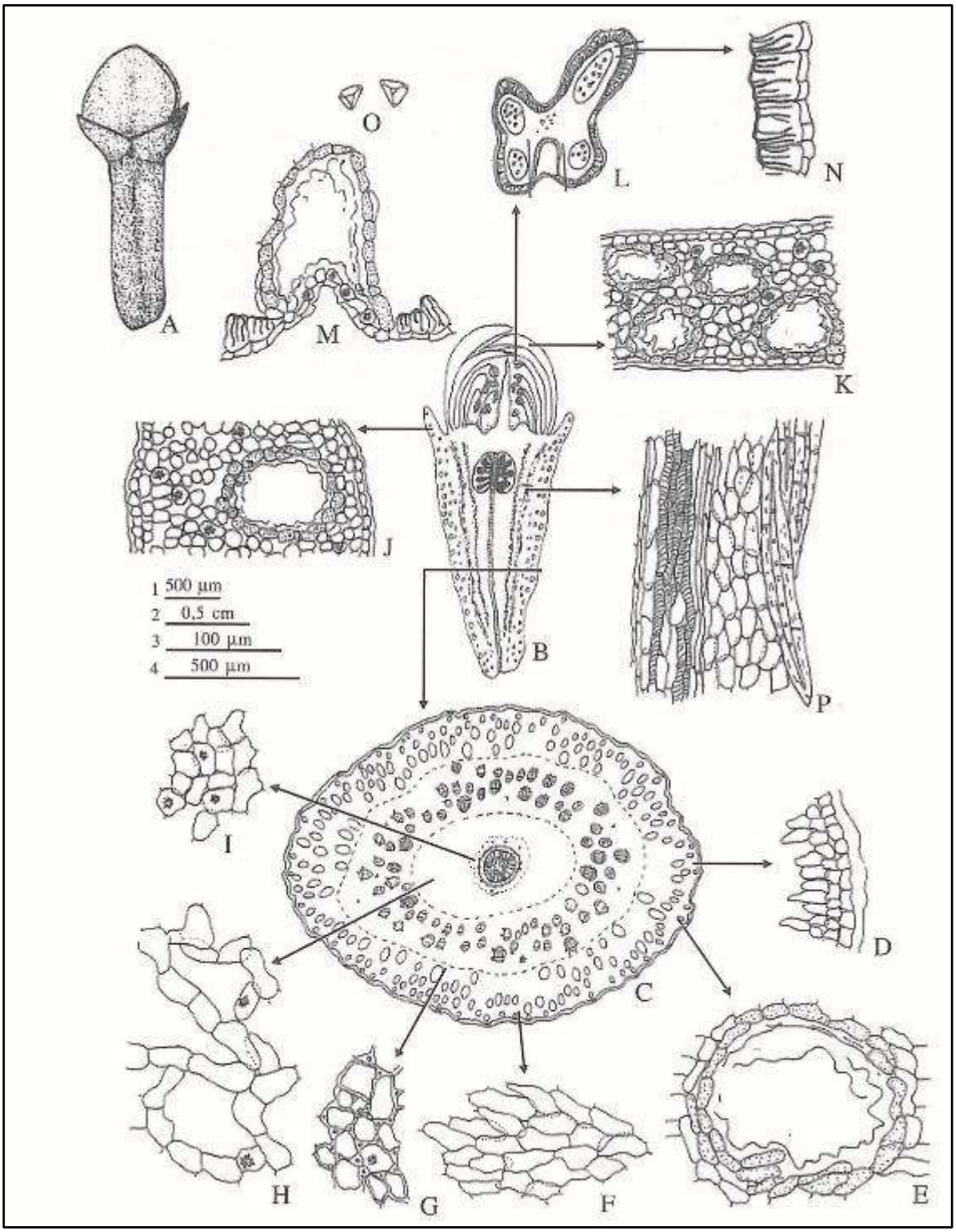


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry

As escalas correspondem em **A** a 0,5 cm, em **B** a 500 µm, em **D-K, M-P** a 100 µm e em **L** a 500 µm.
A - exomorfologia do botão floral em vista lateral. **B** - botão floral em secção longitudinal ao longo da porção mediana. **C** a **O** - secção transversal do botão floral: **C** - hipanto, abaixo da região do ovário. **D** - porção de epiderme e parênquima cortical. **E** - glândula esquizolisígena. **F** - parênquima com células alongadas radialmente. **G** – colênquima. **H** -

aerênquima. **I** - parênquima. **J** - porção da sépala mostrando glândula esquizolisígena. **K** - porção da pétala. **L** - antera. **M** - detalhe da glândula esquizolisígena do conetivo da antera. **N** - detalhe da camada fibrosa da antera. **O** - grãos de pólen. **P** - feixe vascular em secção longitudinal.

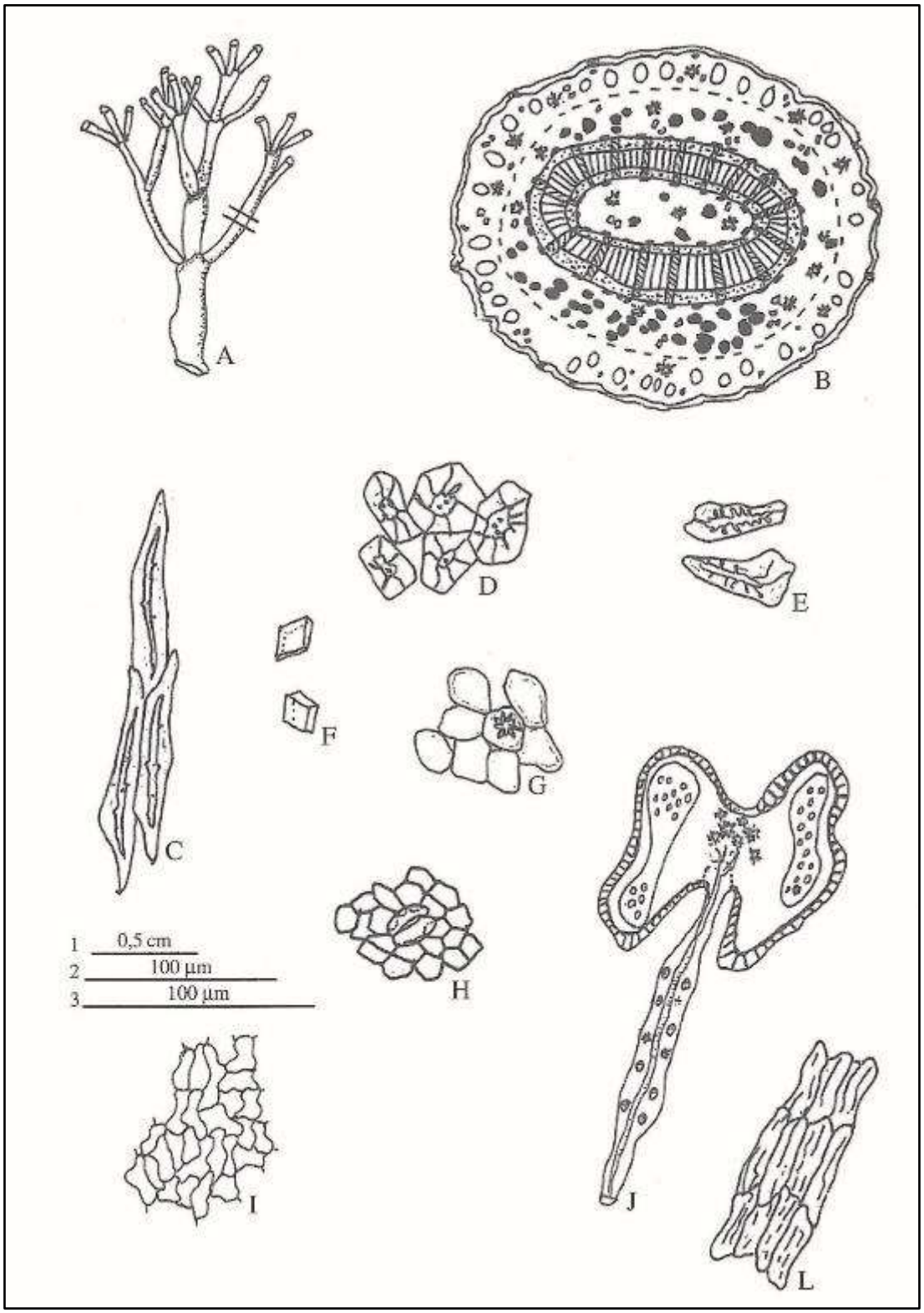


Figura 2 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry

As escalas correspondem em **A** a 0,5 cm, em **B** a **J** a 100 µm.

A - pedúnculo e pedicelos da inflorescência. **B -** secção transversal do pedúnculo como assinalado em A. **C -** fibras em secção longitudinal. **D -** fibras em secção transversal. **E -** esclereídes. **F -** cristais isolados. **G -** parênquima contendo drusas. **H -** epiderme do hipanto em vista frontal mostrando estômato. **I -** epiderme da pétala em vista frontal. **J -** estame em secção longitudinal. **L -** vista frontal da epiderme do filete mostrando cutícula estriada.

CÚRCUMA, rizoma

Curcumae longae rhizoma

A droga vegetal consiste de rizomas secos de *Curcuma longa* L. (*syn*. *Curcuma domestica* Valeton), contendo, no mínimo, 2,5% de óleo volátil e, no mínimo, 2,5% de derivados do dicinamoilmetano expressos em curcumina ($C_{21}H_{20}O_6$, 368,4).

CARACTERÍSTICAS

A droga tem odor fracamente aromático, lembrando o do gengibre.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Rizomas principais ovalados, oblongos ou arredondados, medindo até 12 cm de comprimento e até 5 cm de diâmetro; rizomas laterais cilíndricos e alongados, arredondados nas extremidades, medindo de 6 a 15 cm de comprimento e de 1 a 4 cm de diâmetro, geralmente portando pequenas ramificações. Os rizomas possuem coloração amarelo-parda a amarelo-acastanhada, superfície lisa, com cicatrizes anelares provenientes das bases das bainhas foliares, cicatrizes irregulares provenientes das ramificações laterais e pequenas cicatrizes arredondadas, de raízes. Raízes laterais, quando presentes, amarronzadas, paleáceas e estriadas; pelos longos são visíveis com auxílio de lente nos rizomas e raízes; bainhas fibrosas podem acompanhar o rizoma principal. A fratura é lisa, nítida e gelatinosa, amarelo-alaranjada a alaranjada, com pontos mais claros dispersos, correspondentes aos feixes vasculares. Em secção transversal são visíveis duas zonas: uma região cortical estreita e mais clara e o cilindro central, cuja medula é bem desenvolvida e alaranjada.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, a epiderme apresenta células de variadas formas e de paredes retilíneas e espessas, com algumas gotas lipídicas. Os estômatos são anomocíticos. Os pelos são simples, uni a tricelulares, longos, de paredes espessas, muitas vezes caducos e de base nítida, arredondada e espessa. O súber, visualizado por transparência, apresenta células quadrangulares a retangulares, de paredes espessas, com gotas lipídicas. Em secção transversal, a cutícula é delgada e lisa. A epiderme é formada por células achatadas tangencialmente, a maioria tabular, de paredes finas e os estômatos localizam-se um pouco acima das demais células epidérmicas. O súber é constituído por poucas camadas de células retangulares, muito maiores do que as da epiderme, compactas, de paredes suberizadas, enfileiradas radialmente e com gotas lipídicas. As últimas camadas do súber podem se apresentar colapsadas. O parênquima cortical é constituído por células de várias formas e tamanhos, geralmente poligonais, volumosas, com espaços intercelulares evidentes. Grãos de amido grandes, de variadas formas, com lamelação bem definida e hilo excêntrico ocorrem no parênquima cortical em grande quantidade. Dispersos no córtex ocorrem idioblastos secretores de óleo, cada um deles comumente constituído por uma célula secretora geralmente circular, com uma grande gota amarela, e com células parenquimáticas dispostas radialmente em torno dessa célula. Pequenos feixes vasculares colaterais, células contendo compostos fenólicos e pequenas gotas lipídicas também são comuns nessa região. A endoderme é praticamente contínua e é formada por células pequenas e achatadas, com paredes delgadas. O cilindro central é bastante desenvolvido, formado por células parenquimáticas e idioblastos secretores, contendo compostos fenólicos e gotas lipídicas; grãos de amido são mais raros.

Pequenos feixes vasculares de distribuição anelar ocorrem junto à endoderme e feixes de maior desenvolvimento, de distribuição aleatória e em grande número, ocorrem mais internamente.

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. São características: coloração amarelo-escura; fragmentos da epiderme com pelos, em vista frontal; pelos isolados ou parte desses; fragmentos da epiderme com estômatos, em vista frontal; fragmentos da epiderme com células mostrando gotas lipídicas; fragmentos da epiderme mostrando a cicatriz de pelos, em vista frontal; fragmentos da epiderme e do córtex, visualizado por transparência, em vista frontal; fragmentos de epiderme e de súber, em secção transversal; fragmentos de súber, em vista oblíqua; fragmentos de súber, em secção transversal; fragmentos de súber e de parênquima cortical, em secção transversal; células parenquimáticas isoladas ou agrupadas; fragmentos de parênquima, em secção transversal; fragmentos de parênquima de reserva com células repletas de grãos de amido, em secção transversal; células parenquimáticas isoladas, repletas de grãos de amido, em secção transversal; massas de grãos de amido; grãos de amido isolados e/ou agrupados; porções de elementos de vaso agrupados, com espessamento escalariforme, em secção longitudinal; porções de elementos de vaso isolados, com espessamento reticulado, em secção longitudinal; porções de elementos de vaso com espessamento reticulado, em secção longitudinal, associado a células parenquimáticas, em secção transversal; porções de elementos de vaso com espessamento reticulado e com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; porções de elementos de vaso isolados, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; gotas lipídicas isoladas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

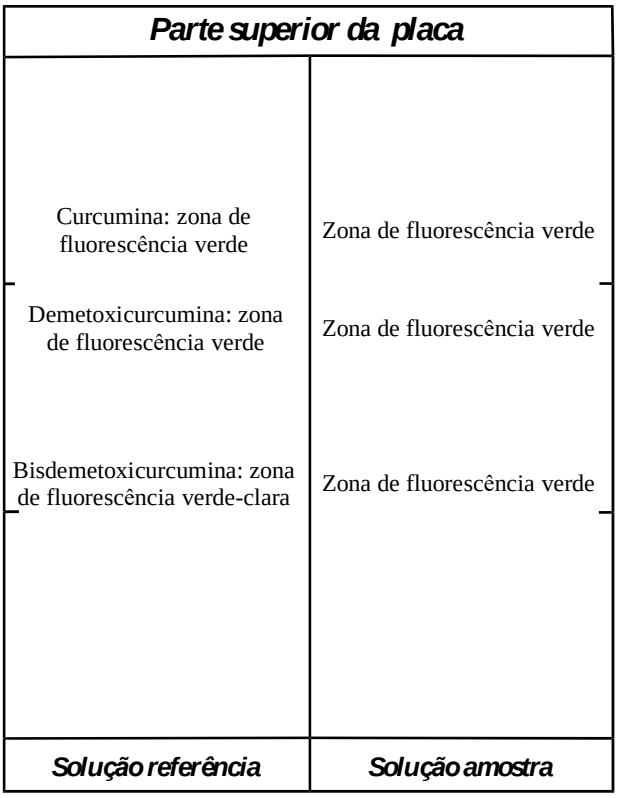
Fase móvel: clorofórmio, álcool etílico e ácido acético glacial (95:5:0,5).

Solução amostra: agitar 0,5 g da amostra recentemente pulverizada com 5 mL de álcool metílico, por 30 minutos, centrifugar durante 10 minutos a 116 × *g*. Filtrar.

Solução referência: dissolver 5 mg de curcumina SQR, demetoxicurcumina SQR e bisdemetoxicurcumina SQR em 5 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar à 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.

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



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

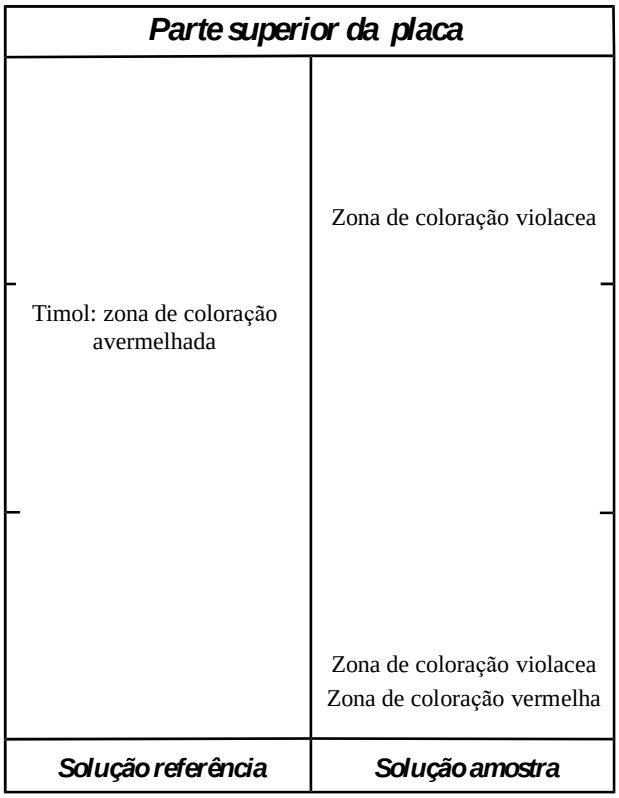
Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* descrita no teste **D.** de *Identificação* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Na *Solução amostra* não deve ser observada zona em posição correspondente ao verificado para a *Solução referência*, característica de outra espécie de cúrcuma. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.



TESTES

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%. Determinar em 15 g de droga vegetal pulverizada (500 µm) **(5.2.11)**.

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

Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais* **(5.4.1.6)**. Utilizar balão de fundo redondo de 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Reduzir a amostra a pó (500 µm) **(5.2.11)** e proceder imediatamente à determinação em 5 g da droga em pó. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

Derivados do dicinamoilmetano

Solução amostra: introduzir 10 mg da amostra em béquer de 50 mL, adicionar 6 mL de ácido acético glacial e aquecer em banho-maria a 90 °C durante 60 minutos. Adicionar 0,2 g de ácido bórico e 0,2 g de ácido oxálico, aquecer em banho-maria a 90 °C durante 10 minutos. Esfriar, diluir com ácido acético glacial em balão volumétrico de 10 mL e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com ácido acético glacial e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância em 530 nm, logo após o seu preparo utilizando ácido acético glacial para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados de dicinamoilmetano, expressos como curcumina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TDC} = \frac{\mathrm{A} \times\ 0{,}0426}{m\ \times 2350}$$

em que.

TDC = teor de derivados de dicinamoilmetano, expressos como curcumina % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
2350 = coeficiente de absorção específica da curcumina;
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.

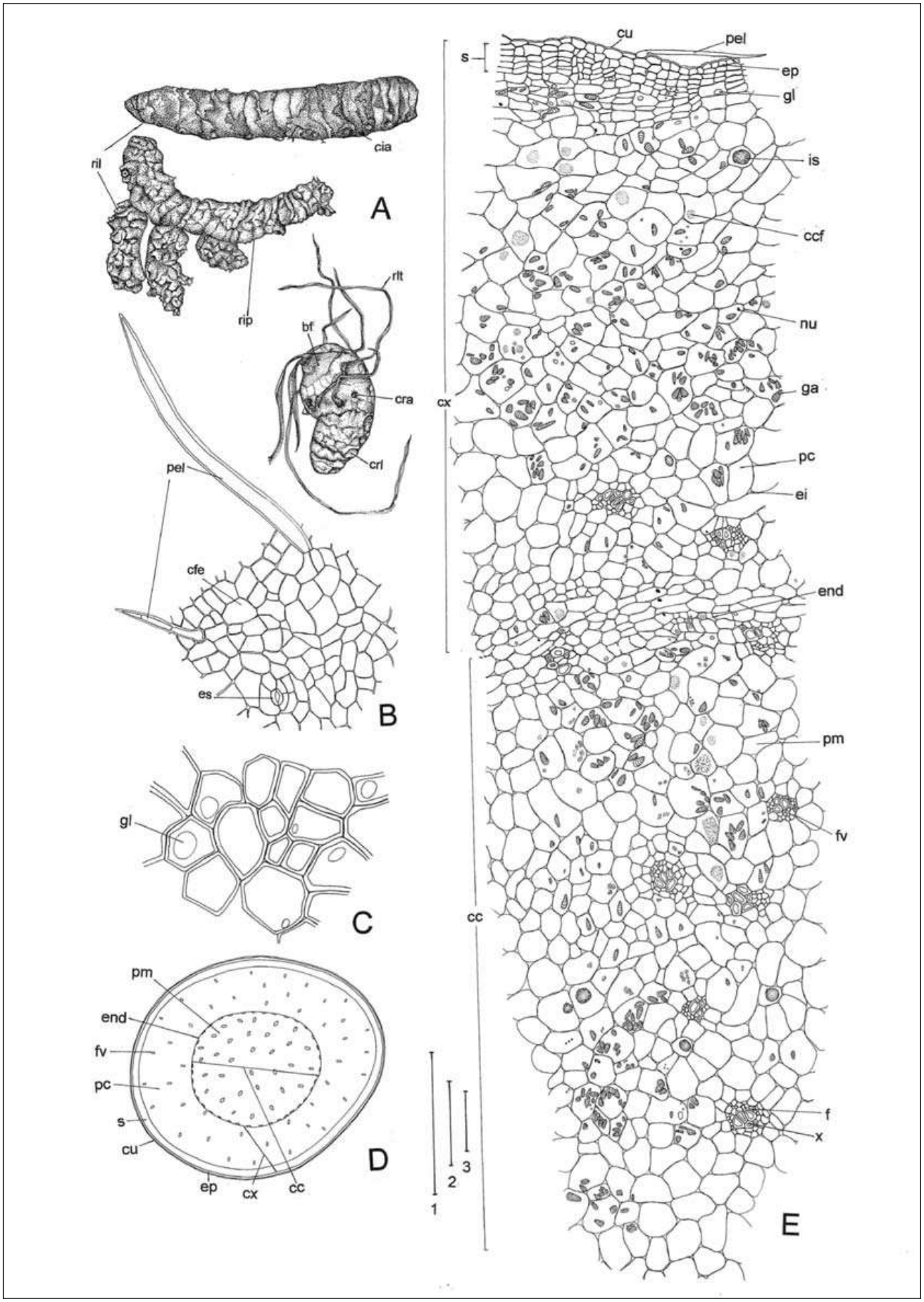


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Curcuma longa* L.

As escalas correspondem em **A** a 5 cm (régua 1); em **B**, **C** e **E** a 100 μm (régua 2); em **D** a 1,0 mm (régua 3).

A – aspectos gerais de rizomas: bainha foliar (bf); cicatriz anelar proveniente da base da bainha foliar (cia); cicatriz de ramificação lateral (crl); cicatriz de raiz (cra); rizoma lateral (ril); rizoma principal (rip); raiz lateral (rlt). **B** – detalhe de porção da epiderme, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); pelo (pel). **C** – detalhe de porção do súber, em vista frontal: gota lipídica (gl). **D** – esquema do rizoma em secção transversal: cilindro central (cc); cutícula (cu); córtex (cx); endoderme (end); epiderme (ep); feixe vascular (fv); parênquima cortical (pc); parênquima medular (pm); súber (s). **E** – detalhe de porção do rizoma em secção transversal: cilindro central (cc); célula contendo composto fenólico (ccf); cutícula (cu); córtex (cx); espaço intercelular (ei); endoderme (end); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); grão de amido (ga); gota lipídica (gl); idioblasto secretor (is); núcleo (nu); pelo (pel); parênquima cortical (pc); parênquima medular (pm); súber (s); xilema (x).

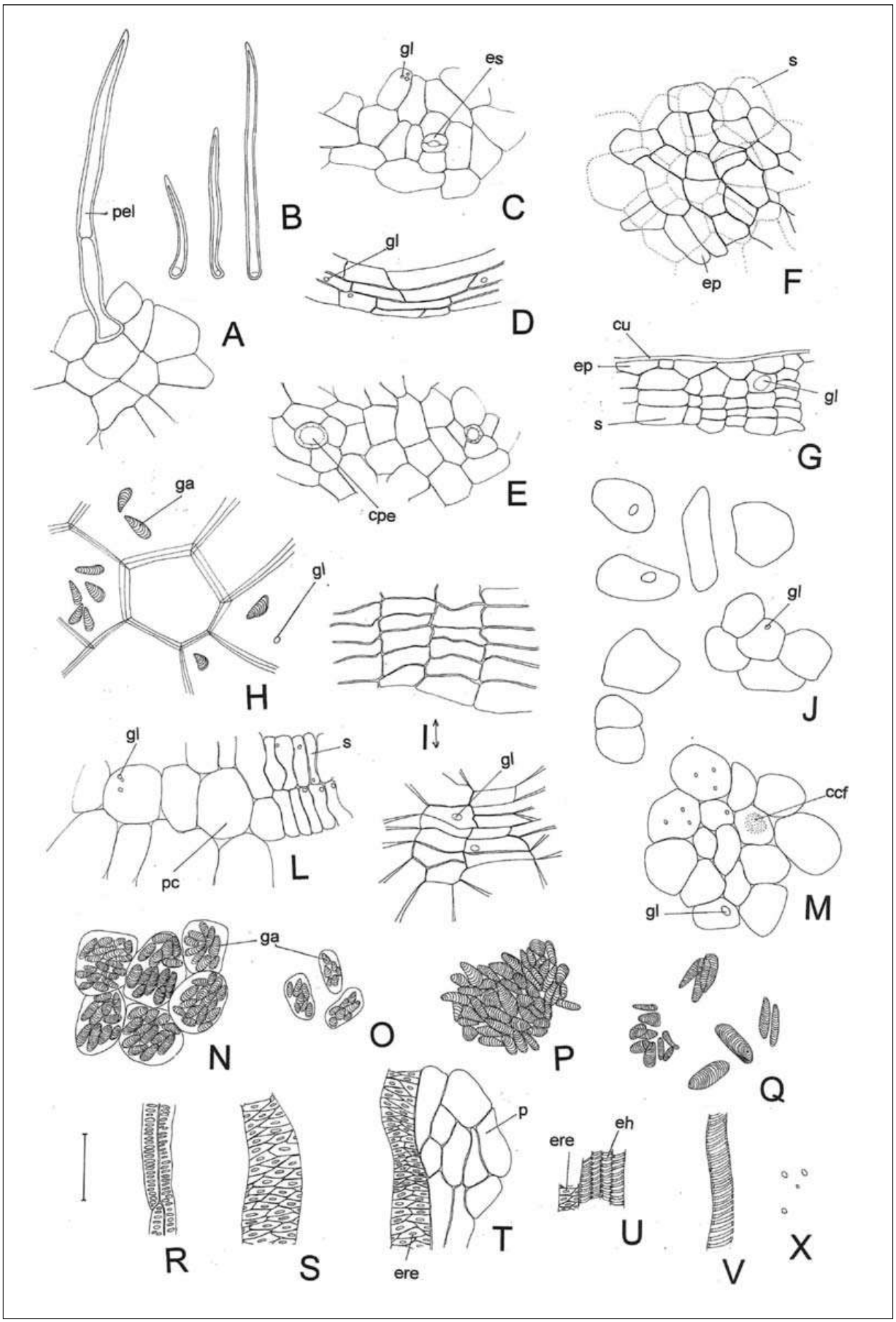

pel
A
B
gl
es
C
gl
D
s
ep
F
cu
ep
gl
s
G
cpe
E
ga
gl
H
I
gl
J
gl
s
pc
L
gl
ccf
gl
M
ga
N
O
P
Q
p
ere
T
ere
eh
U
R
S
V
X

Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Curcuma longa* L.

A escala corresponde a 100 μm.

A – fragmento de epiderme, com pelo, em vista frontal: pelo (pel). **B** – pelos isolados. **C** – fragmento de epiderme com estômato, em vista frontal: estômato (es); gota lipídica (gl). **D** – fragmento de epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl). **E** – fragmento de epiderme com cicatrizes de pelos, em vista frontal: cicatriz de pelo (cpe). **F** – fragmento de epiderme e do córtex, visto por transparência, em vista frontal: epiderme (ep); súber (s). **G** – fragmento de epiderme e de súber, em secção transversal: cutícula (cu); epiderme (ep); gota lipídica (gl); súber (s). **H** – fragmento de súber, em vista oblíqua: grão de amido (ga); gota lipídica (gl). **I** – fragmentos de súber, em secção transversal: gota lipídica (gl). **J** – células parenquimáticas isoladas ou agrupadas: gota lipídica (gl). **L** – fragmento de súber e de parênquima cortical, em secção transversal: gota lipídica (gl); parênquima cortical (pc); súber (s). **M** – fragmento de parênquima, em secção transversal: célula contendo composto fenólico (ccf); gota lipídica (gl). **N** – fragmento de parênquima de reserva com células repletas de grãos de amido, em secção transversal: grão de amido (ga). **O** – células parenquimáticas isoladas, repletas de grãos de amido, em secção transversal: grão de amido (ga). **P** – massa de grãos de amido. **Q** – grãos de amido isolados e/ou agrupados. **R** – porções de elementos de vaso agrupados, com espessamento escalariforme, em secção longitudinal. **S** – porção de elemento de vaso isolado, com espessamento reticulado, em secção longitudinal. **T -** porção de elemento de vaso com espessamento reticulado em secção longitudinal, associado a células parenquimáticas, em secção transversal: elemento de vaso com espessamento reticulado (ere); parênquima (p). **U** – porções de elementos de vaso com espessamento reticulado e com espessamento helicoidal, em secção longitudinal: elemento de vaso com espessamento helicoidal (eh); elemento de vaso com espessamento reticulado (ere). **V** – porção de elemento de vaso isolado, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal. **X** – gotas lipídicas isoladas.

ENDRO, fruto
Anethi fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Anethum graveolens* L., contendo, no mínimo, 2,0% de óleo volátil, 30,0% de carvona e 30,0% de dilapiol.

CARACTERÍSTICAS

Possui odor aromático.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é um diaquênio ovalado, constituído de dois mericarpos comprimidos dorsalmente, de 0,3 a 0,6 cm de comprimento e 0,12 a 0,3 cm de largura, de coloração castanha a castanho-clara, com dois estilopódios e ápice dos estiletes retrorsos. Na dessecação, os mericarpos estão usualmente separados e, em regra, não estão acompanhados pelos carpóforos; restos do estilopódio e do cálice podem ocorrer. Cada mericarpo apresenta duas arestas marginais prolongadas em uma ala circundante, larga, membranácea, mais clara, amarelada e três arestas dorsais, longitudinais, filiformes, castanho-claras a amareladas, pouco elevadas, todas primárias. A face comissural é achatada e um pouco côncava pela dessecação, mostrando nitidamente a linha do carpóforo. A cutícula de cada mericarpo é recoberta por uma cera epicuticular formada por curtos filamentos distribuídos ao acaso. Esses filamentos são bem mais densos na face comissural, o que a torna esbranquiçada. O mericarpo, em secção transversal, é plano-convexo, deixando visíveis seis canais secretores elípticos, quatro deles grandes e estreitos, distribuídos na porção dorsal e dois, raramente mais, grandes, na face comissural ou ventral. Em cada aresta dorsal ocorrem feixes vasculares. Aqueles correspondentes às alas são levemente maiores do que os demais. O endosperma é oleoso e côncavo na face comissural.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o mericarpo, achatado dorsalmente, mostra três arestas primárias dorsais, estreitas, e duas arestas primárias laterais, alongadas. O epicarpo é constituído por cutícula estriada, formada por filamentos de cera dispostos ao acaso e por uma camada de células epidérmicas achatadas e de paredes finas, exceto a periclinal externa, que é mais espessa. O mesocarpo é formado externamente por algumas camadas de células parenquimáticas achatadas. Na região do mesocarpo, correspondente às arestas primárias, tanto marginais quanto dorsais, localizam-se cordões de fibras, com alguns elementos vasculares, nem sempre visíveis. Na região entre as arestas e na região comissural, ocorrem os canais secretores, esquizógenos, de forma elíptica e estreito-alongada no sentido tangencial. O epitélio secretor é formado por células achatadas tangencialmente e de paredes espessas. Na porção do canal secretor voltado para o epicarpo e logo abaixo desse, ocorrem esclereídes de formato quadrado ou retangular. A porção mais interna do mesocarpo é composta por duas a três camadas de células amarelo-acastanhadas, muito achatadas tangencialmente, de paredes espessas, quando comparadas com as do epicarpo. O endocarpo é composto por uma camada de células lignificadas. Entre o pericarpo e a semente, na face comissural, há uma câmara ao lado da rafe. Usualmente associada ao endocarpo, ocorre a testa, formada por uma única camada de células, em regra colapsadas, de coloração castanha e paredes finas. O endosperma é abundante, composto por células de paredes espessas, as mais externas mais alongadas e completamente preenchidas por grãos de amido. Gotas de óleo e inúmeros cristais de oxalato de cálcio de diferentes formas estão

presentes. As células com grãos de amido, quando submetidas ao lugol, ficam avermelhadas e as gotas de óleo, isoladas no material, coram-se de amarelo a alaranjado.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; porções da epiderme do epicarpo, cujas células têm cutícula coberta por filamentos de cera dispostos ao acaso; porções do mesocarpo com células poligonais a retangulares de paredes com pontoações evidentes; porções do endocarpo com células de paredes sinuosas; cristais diminutos de diferentes formas, principalmente drusas, ocorrem abundantemente e agregados; cristais isolados em forma de prismas, principalmente romboédricos, em geral maiores do que os cristais agregados; agrupamentos de fibras associados aos feixes vasculares; elementos traqueais de espessamento helicoidal e/ou anelado, ou ocasionalmente, reticulado ou pontoado; porções do endosperma constituído por tecido parenquimático de paredes espessas, com células repletas de grãos de amido; esclereídes como descritos; canais secretores, ou porções desses, com células do epitélio secretor.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (93:7).

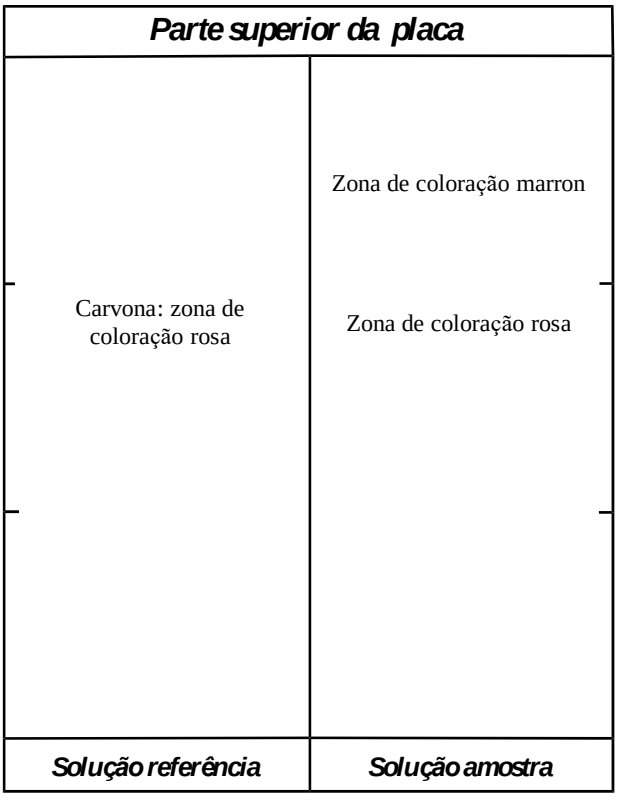
Solução amostra (1): agitar, durante 10 minutos, 0,5 g da droga pulverizada com 10 mL de cloreto de metileno. Filtrar. Concentrar o filtrado em banho-maria, até resíduo, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 10 mL de tolueno.

Solução amostra (2): diluir 2 µL do óleo volátil, obtido em *Doseamento* de *Óleos voláteis*, em 1 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 2 µL de carvona em 1 mL de tolueno.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta a 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*, *Solução amostra (1)* e a *Solução amostra (2)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.



TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 11,0%.

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 250 mL contendo 100 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Reduzir os frutos dessecados a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 25 g da droga em pó. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

Carvona e dilapiol

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna cromatográfica 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 80 kPa de pressão, como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 80	60 → 300
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir o óleo volátil obtido em *Doseamento de óleos voláteis* 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. A carvona e o dilapiol apresentam tempos de retenção linear de 1236 e 1615, respectivamente. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Calcular o Índice de Retenção Relativa (IRR), segundo a expressão:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr}_x - \mathrm{tr}_z)}{(\mathrm{tr}_{z+1} - \mathrm{tr}_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativa;
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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

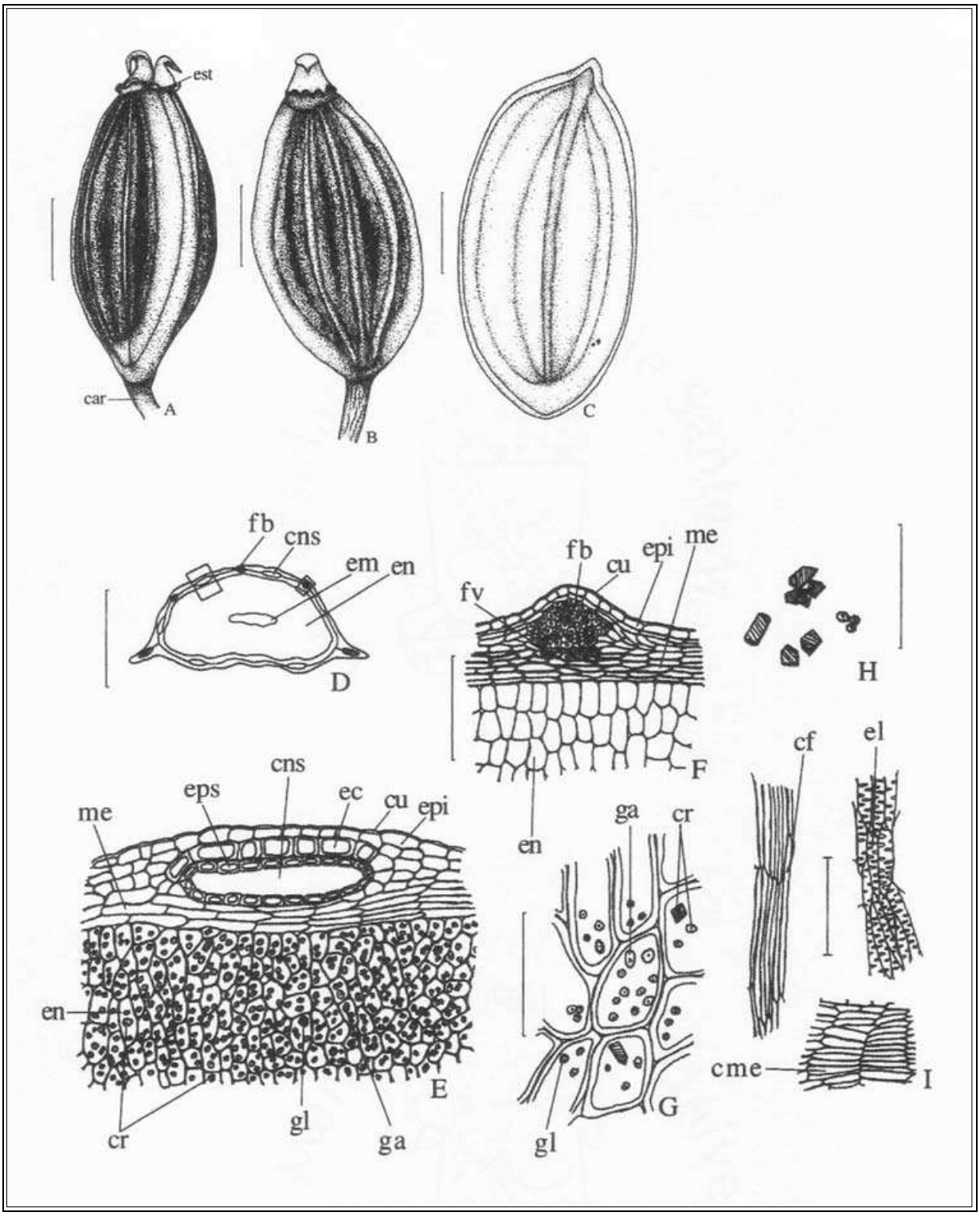


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Anethum graveolens* L.

As escalas correspondem: em **A**, **B**, **C**, **D**. a 1 mm; em **E**, **F**, **I** a 100 μm; em **G** e **H** a 50 μm.

A – diaquênio em vista lateral: carpóforo (car); estilopódio (est). **B** – mericarpo em vista frontal. **C** – vista da face comissural do mericarpo. **D** – aspecto geral de um mericarpo em secção transversal: fibras (fb); canal secretor (cns); embrião (em); endosperma (en). **E** –. detalhe da secção transversal do mericarpo, como assinalado em **D**: mesocarpo (me); endosperma (en); cristais (cr); gota lipídica (gl); grão de amido (ga); epitélio secretor (eps); canal secretor (cns); esclereide (ec); cutícula (cu); epicarpo (epi). **F** – detalhe da secção transversal do mericarpo na região de uma aresta dorsal, como assinalado em **D**: feixe vascular (fv); fibras (fb); cutícula (cu); epicarpo (epi); mesocarpo (me); endosperma (en). **G** – detalhe de células do endosperma: gota lipídica (gl); grão de amido (ga); cristais (cr). **H** – cristais de diferentes formas. **I** – detalhes do pó: cordão de fibras (cf); detalhe de elementos traqueais em vista longitudinal (el); detalhe de células do mesocarpo com paredes espessas (cme).

ESPINHEIRA-SANTA, folha
Mayteni folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, contendo no mínimo, 2,0% de taninos totais, expressos em pirogalol ($C_6H_6O_3$ 126,11), e, no mínimo, 0,28% de epicatequina ($C_{15}H_{14}O_6$, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Ramos jovens, quando presentes, glabros, angulosos, com estrias longitudinais. Pecíolo curto, com 0,2 a 0,5 cm de comprimento. Folhas simples, inteiras, ovalado-oblongas à elípticas ou elíptico-lanceoladas; lâmina com 2,1 a 9 cm de comprimento, e 1 a 3,1 cm de largura, coriáceas a subcoriáceas, glabras, de coloração verde-acinzentada, mais clara na face abaxial; ápice mucronado, base aguda a obtusa. A nervação é peninérvea, craspedódroma mista, com nervuras secundárias partindo em ângulo agudo em relação à principal, terminando na margem da lâmina, ou ramificando-se nas proximidades dela, ou ainda seguindo em direção à margem, onde se reúnem com a superior subsequente, formando arcos. Na margem foliar, tanto as nervuras secundárias quanto as que delas partem, unem-se com a nervura marginal, formando projeções pontiagudas, de cinco a 15 unidades por folha, distribuídas em um ou nos dois lados da lâmina, mais frequentemente, em sua metade apical, sendo sempre uma delas terminal. Aréolas predominantemente retangulares, com terminações ramificadas; margem foliar espessada e amarelada.

B. Descrição microscópica

A folha apresenta mesofilo dorsiventral e é hipoestomática, com estômatos laterocíticos, de uma a três células subsidiárias para cada célula-guarda. A epiderme é uniestratificada e recoberta por cutícula espessa que se projeta entre as células, sempre mais proeminente na região da nervura principal, onde ocorrem ornamentações cuticulares na forma de estrias e papilas. As células epidérmicas comuns, em ambas as faces da lâmina, são poligonais, de dimensões variadas, com paredes anticlinais retas, maiores na face adaxial. Nelas estão presentes cristais de oxalato de cálcio, prismáticos retangulares e estiloides pequenos. O parênquima paliçádico é formado por dois estratos de células longas e finas, em paliçada típica, ou ainda, por dois a três estratos de células cúbicas. O parênquima esponjoso apresenta seis a nove estratos de células com expansões braciformes curtas, mais compactado na face abaxial. No mesofilo são comuns idioblastos fenólicos, isolados ou em grupos, além de cristais estiloides e prismáticos de pequenas dimensões. Na nervura principal, biconvexa em secção transversal, ocorrem três a quatro camadas de colênquima angular junto à face adaxial e duas a três na face oposta. O feixe vascular é único, colateral, em arco aberto, circundado por bainha parenquimática, e com calotas de fibras sobre ambos os polos de tecidos condutores. A distribuição dos tecidos nos feixes vasculares pode variar de acordo com a porção da lâmina e o grau de amadurecimento do órgão. O floema apresenta cristais rômbicos de oxalato de cálcio, esclereídes e idioblastos fenólicos. As fibras que o acompanham apresentam parede celular espessada, com pontoações simples. Folhas maduras podem apresentar feixe vascular bicolateral ou concêntrico (anficrival), sempre circundado por esclerênquima. Na margem foliar, o feixe vascular está envolto por 250 a 280 fibras. O pecíolo é circular a plano-convexo, em secção transversal e, em direção à porção distal da folha, ocorrem aletas laterais e uma leve convexidade na porção adaxial. A epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula espessa. Nas células epidérmicas e nos estratos subjacentes ocorrem pequenos cristais de oxalato de cálcio ser idioblastos fenólicos. O parênquima colenquimatoso pode conter cristais estiloides prismáticos de pequenas dimensões. Braquiesclereídes

isolados ocorrem ao acaso no parênquima fundamental do pecíolo. O feixe vascular é concêntrico, cilíndrico a levemente côncavo-convexo, circundado por uma bainha esclerenquimática composta por fibras isoladas ou em grupos de dois a muitos elementos.

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 com paredes periclinais retas, recobertas por cutícula espessa e contendo pequenos cristais estiloides ou prismáticos pequenos; fragmentos de epiderme com estômatos laterocíticos; fragmentos de epiderme, em secção transversal, com estômato evidenciando o átrio; fragmentos de parênquima paliçádico com duas ou três camadas; fragmentos de bordos foliares com porções de fibras; fragmentos de fibras de grosso calibre com pontoações simples; fragmentos de parênquima com braquiesclereides; fragmentos de parênquima contendo idioblastos fenólicos; fibras isoladas ou conjunto de fibras em vista longitudinal; cristais estiloides ou prismáticos ou rômbicos, isolados; braquiesclereides isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254} (0,250 mm).

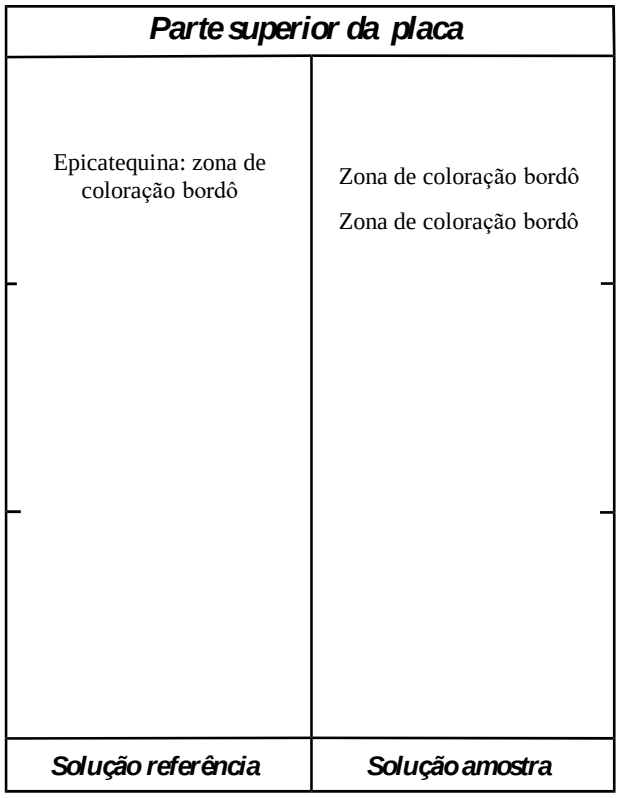
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 5 g da droga pulverizada, acrescentar 50 mL de água e aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão, sob pressão reduzida, para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 3 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar em capela de exaustão. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer em estufa a 110 ºC, 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.



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 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.

Índice de espuma. Transferir, quantitativamente, cerca de 1 g da droga vegetal pulverizada (180 μm), 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, 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 durante 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 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 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 no qual a espuma foi observada.

O índice de espuma é, no mínimo, 250.

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 0,750 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 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 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 substâncisa de referência.

Epicatequina

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 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 0,8 mL/minuto.

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

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
0 – 13	82 → 75	18 → 25	gradiente linear
13 – 16	75 → 66	25 → 34	gradiente linear
16 – 20	66 → 58	34 → 42	gradiente linear
20 – 23	58 → 35	42 → 65	gradiente linear
23 – 25	35 → 82	65 → 18	gradiente linear
25 – 28	82	18	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 5 g da droga vegetal pulverizada (250 µm) **(5.2.11)** em balão de fundo redondo de 100 mL com boca esmerilhada, adicionar 50 mL de água e levar a refluxo durante 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida sob pressão reduzida. Extrair o filtrado com três porções de 50 mL de acetato de etila em funil de separação de 250 mL. Para total separação das fases, deixar em repouso à temperatura de -18 °C durante 5 minutos. Reunir as fases orgânicas. Filtrar em papel de filtro contendo 5 g de sulfato de sódio anidro, sob pressão reduzida. Evaporar a fase orgânica em rotaevaporador, sob pressão reduzida, até resíduo. Suspender o resíduo com 5 mL de mistura de álcool metílico e água (2:8). Extrair em cartucho de extração em fase sólida, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 µm, 70 Å), previamente acondicionada com 8 mL de mistura de álcool metílico e água (2:8), para balão de 100 mL. Eluir 10 mL de álcool metílico e água (2:8) para o mesmo balão, completar o volume com álcool metílico e água (2:8) e homogeneizar (S_1). Transferir, volumetricamente, 5 mL da S_1 para balão volumétrico 25 mL, completar o volume com álcool metílico e água (1:1) e homogeneizar (S_2). Filtrar a S_2 em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de epicatequina em álcool metílico e água (1:1), para obter solução a 0,4 mg/mL.

Soluções para curva analítica: diluir alíquotas de 50 µL, 200 µL, 350 µL, 500 µL e 600 µL da *Solução referência* em balão volumétrico de 2 mL, com álcool metílico e água (1:1), para obter concentrações de 10 µg/mL; 40 µg/mL; 70 µg/mL; 100 µg/mL e 120 µg/mL. 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 as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo é cerca de oito minutos para epicatequina. Determinar o teor de epicatequina na *Solução amostra* a partir da equação linear da reta obtida com a curva analítica do padrão. Calcular o teor de epicatequina, em mg/g da amostra, segundo a expressão:

$$\text{TEC} = \frac{C_r \times 500}{m_a \times 1000}$$

em que,

TEC = teor de epicatequina em mg/g;
C_r = concentração em µg/mL de epicatequina/mL na *Solução amostra*, a partir da equação da reta;
500 = fator de diluição;
1000 = valor de conversão de µg para mg;
m_a = 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.

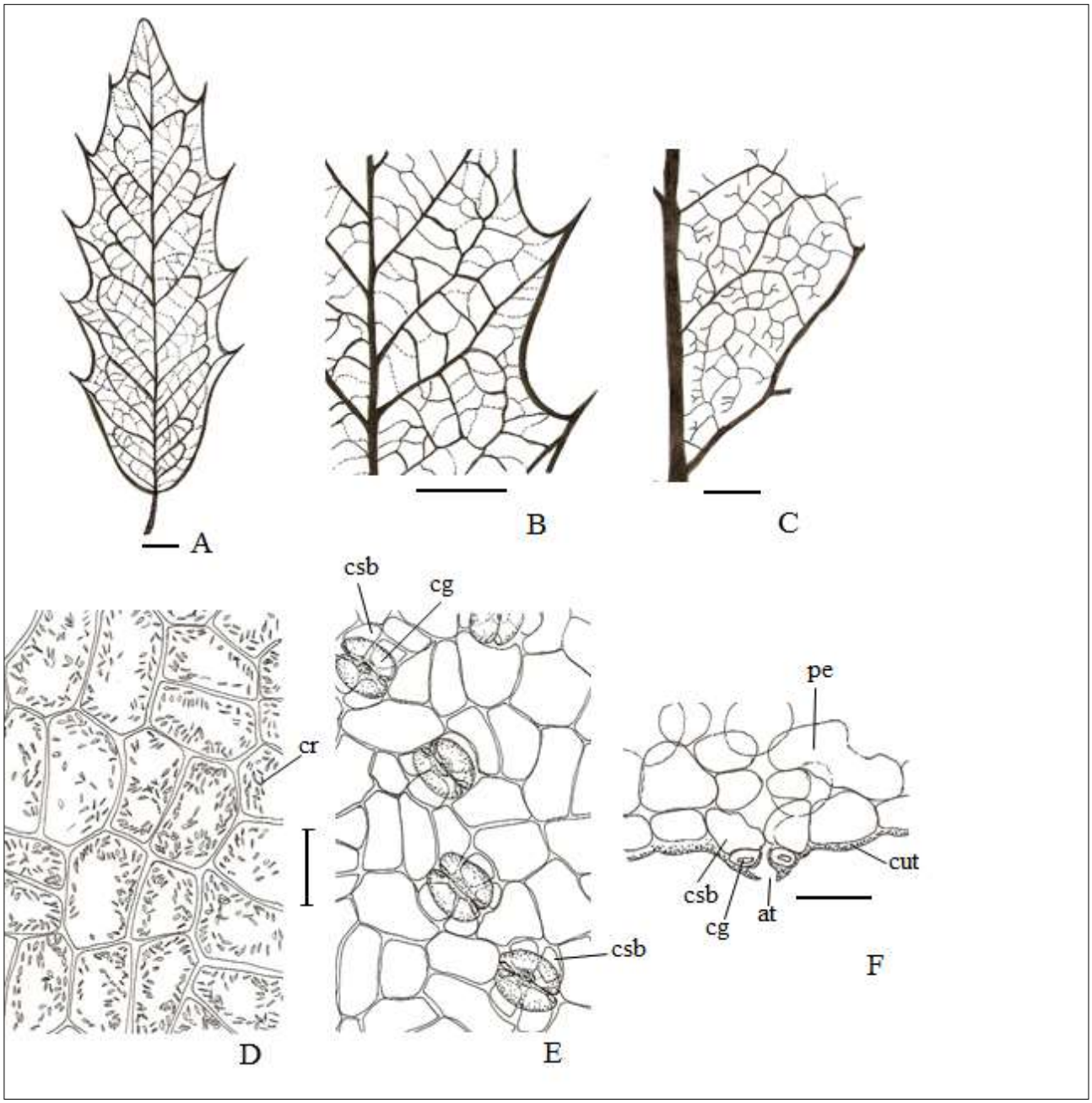


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek

As escalas correspondem em **A** e **B** a 5 mm; em **C** a 1 mm; em **D**, **E** e **F** a 30 μm.
A – aspecto geral da lâmina foliar. **B** – detalhe da nervação foliar na face adaxial, em vista frontal. **C** – detalhe de porção da lâmina foliar, na face adaxial, em vista frontal, mostrando as aréolas e terminações xilemáticas. **D** e **E** – detalhe parcial da epiderme voltada para a face adaxial e abaxial, respectivamente, em vista frontal: idioblasto cristalífero (ic); célula subsidiária (csb); estômato (es). **F** – detalhe parcial da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando um estômato: parênquima esponjoso (pj); cutícula (cu); átrio supra-estomático (at); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); idioblasto cristalífero (ic).

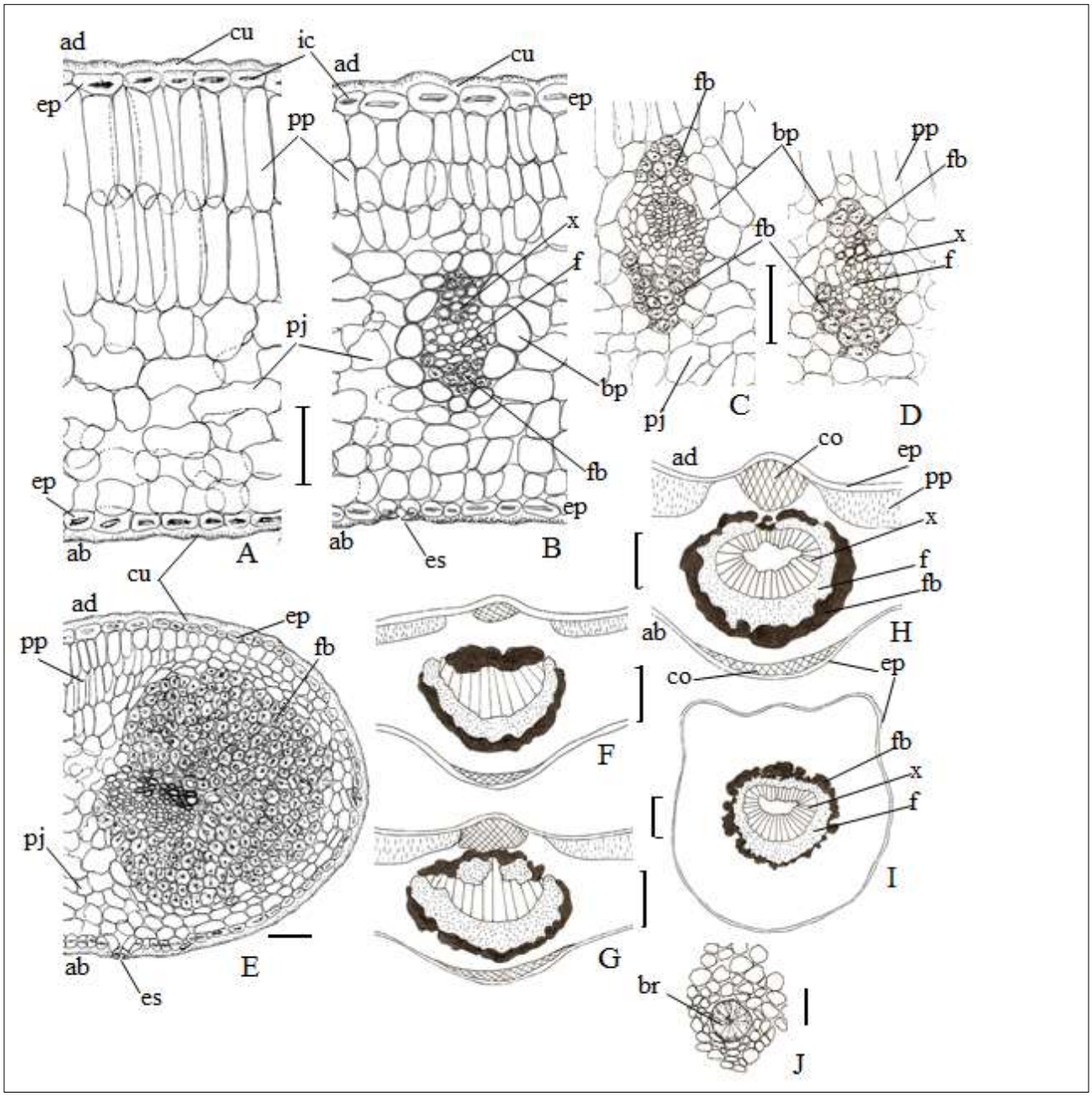


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek

As escalas correspondem em **A** e **B** a 50 µm; em **C** e **D** a 75 µm; em **E** a 35 µm; em **F** a 120 µm; em **G** a 180 µm; em **H** e **I** a 200µm; em **J** a 50 µm.

A e **B –** detalhes parciais do mesofilo de amostras distintas, em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x); floema (f); bainha parenquimática (bp); fibras (fb); estômato (es). **C** e **D –** detalhe de um feixe vascular secundário na porção basal e na porção mediana da lâmina foliar, respectivamente, em secção transversal: fibras (fb); bainha parenquimática (bp); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f). **E –** detalhe do bordo foliar, em secção transversal, mostrando a nervura marginal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); fibras (fb); estômato (es). **F**, **G** e **H** – esquemas do aspecto geral da porção mediana da nervura principal, em secções transversais, mostrando variações na distribuição do floema, xilema e fibras: face adaxial (ad); face abaxial (ab); colênquima (co); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f); fibras (fb). **I –** esquema do aspecto geral do pecíolo, em secção transversal: epiderme (ep); fibras (fb); xilema (x); floema (f). **J –** detalhe de um braquiesclereíde do pecíolo, em secção transversal: braquiesclereíde (br).

ESTÉVIA, folha
Steviae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, contendo, no mínimo, 12,0% de carboidratos totais e 4,0% de esteviosídeo ($C_{38}H_{60}O_{18}$, 804,87).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, com até 6 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura, membranosas e quebradiças, verde escuras na face adaxial e mais claras na abaxial, espatuladas a lanceoladas, sésseis, de ápice agudo, base atenuada e margem serrilhada a partir do terço basal em direção ao ápice foliar, com três nervuras longitudinais, a principal mais desenvolvida. Venação actinódroma. A folha é recoberta por tricomas tectores pluricelulares e unisseriados em ambas as faces; tricomas glandulares são visíveis com lente de aumento.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, anfiestomática, com estômatos anomocíticos. Em vista frontal, a epiderme exibe células de paredes sinuosas, com sinuosidade mais acentuada na face abaxial; na região das nervuras, as células são alongadas e de paredes periclinais retilíneas. Os estômatos ocorrem em maior número na face abaxial. Tricomas tectores pluricelulares unisseriados, de dois tipos, são encontrados em toda a superfície da lâmina foliar, em ambas as faces, os maiores com base alargada e ápice agudo, sendo as células basais mais volumosas, os menores com diâmetro uniforme da base até o ápice, sendo esses, menos afilados; tricomas glandulares ocorrem nas duas faces e localizam-se em pequenas depressões da epiderme, com pedicelo pluricelular e unisseriado e cabeça arredondada e unicelular. Em alguns locais da epiderme são visíveis estrias epicuticulares. Em secção transversal da lâmina, os estômatos parecem situados no mesmo nível ou ligeiramente acima das demais células epidérmicas e as paredes periclinais internas e anticlinais que delimitam o poro estomático são espessadas. O parênquima paliçádico é formado por uma ou duas camadas de células; quando duas, essas abrangem a metade da espessura da lâmina. O parênquima esponjoso apresenta vários estratos, dispostos irregularmente. Os feixes vasculares secundários são colaterais, circundados por uma bainha parenquimática clorofilada. A nervura principal, em secção transversal, mostra-se mais proeminente na face abaxial. As células da epiderme são isodiamétricas e o colênquima é lacunar. O sistema vascular é representado por um feixe vascular colateral, envolvido parcialmente por fibras esclerenquimáticas junto ao xilema e ao floema, em forma de calotas. Em secção transversal, a base foliar mostra forma semicircular aberta, ligeiramente côncava na face adaxial e convexa na abaxial. A epiderme apresenta células poliédricas a quadrangulares, com cutícula ornamentada. Os estômatos estão localizados acima do nível das demais células epidérmicas e ocorrem apenas nos bordos. O colênquima é formado por uma ou duas camadas de células, em ambas as faces. O parênquima fundamental preenche a maior parte dessa região e o clorênquima os bordos. O sistema vascular é constituído de cinco a sete feixes vasculares colaterais, sendo o central maior.

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 com células de paredes anticlinais sinuosas e estômatos anomocíticos; fragmentos de regiões das nervuras com células epidérmicas

alongadas; fragmentos de feixes vasculares como os descritos; tricomas tectores e glandulares como os descritos.

D. Descrição macroscópica das impurezas

Flores, quando presentes, alvas, todas iguais, reunidas em capítulos e protegidas por um invólucro de cinco ou seis brácteas. Os capítulos são agrupados em panículas terminais corimbiformes. Fruto, quando presente, do tipo aquênio, com quatro ou cinco ângulos longitudinais e superfície pilosa, acompanhado do papus formado por uma só fileira de cerdas.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254} (0,250 mm).

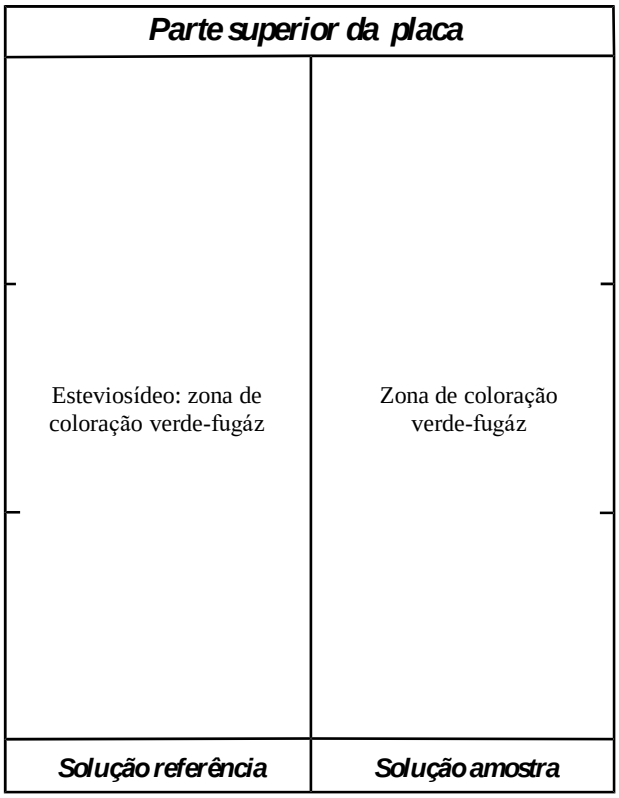
Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e ácido acético glacial (60:40:5).

Solução amostra: pesar cerca de 0,25 g de folhas pulverizadas e colocar em balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de mistura de água e álcool etílico (1:1). Aquecer, sob refluxo, por uma hora. Filtrar em papel de filtro. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 10 mL, resfriar e completar o volume com mistura de água e álcool etílico (1:1).

Solução referência: dissolver quantidade, exatamente pesada, de esteviosídeo em álcool metílico, de modo a obter solução a 1 mg/mL.

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 anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 110 °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.



TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 13,0%.

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

Carboidratos totais

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 de folha de estévia pulverizada. Extrair, por infusão, com 80 mL de água quente, por três vezes e filtrar. Reunir os filtrados, completar o volume para 250 mL e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 0,6 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio, adicionar 0,6 mL de fenol a 5% (p/v) e 3 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por 10 minutos.

Solução branco: transferir 0,6 mL de água para tubo de ensaio, adicionar 0,6 mL de fenol a 5% (p/v) e 3 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por 10 minutos.

Solução referência: transferir 0,6 mL de glicose a 0,01% (p/v) em água, para tubo de ensaio, adicionar 0,6 mL de fenol a 5% (p/v) e 3 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por 10 minutos.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* e da *Solução referência* em 490 nm, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de carboidratos totais na amostra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{A}_a}{\mathrm{A}_r} \times\ 1{,}125 \times 10$$

em que,

TC = teor de carboidratos % (p/p);
A_a = absorvância medida para a *Solução amostra*;
A_r = absorvância medida para a *Solução referência*;
10 = fator de diluição.

Esteviosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 206 nm; pré-coluna empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo do *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Eluente (A): água e acetonitrila (80:20).

Eluente (B): acetonitrila.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
0 – 4	100→70	0→30	gradiente linear
4 – 7	70→0	30→100	gradiente linear

Solução amostra: transferir cerca de 0,25 g, pesados com exatidão, da droga seca e pulverizada para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de mistura de água e álcool etílico (1:1), e aquecer a cerca de 100 °C, sob refluxo, por 60 minutos. Resfriar o extrato à temperatura ambiente com corrente de água fria. Filtrar o extrato em papel de filtro, sob vácuo, lavando o marco com pequeno volume de água. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com mistura de água e álcool etílico (1:1). Diluir 50 µL da solução resultante em 950 µL de mistura de acetonitrila e água (20:80).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de esteviosídeo em álcool metílico de modo a obter solução a 1 mg/mL. Aquecer, brandamente, se necessário.

Soluções para a curva analítica: diluir 500 µL da *Solução referência* de modo a obter solução a 0,50 mg/mL. Realizar diluições sucessivas da solução anterior, em álcool metílico, de modo a obter concentrações de 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,032 mg/mL e 0,016 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para a 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 quatro minutos e 40 segundos para o esteviosídeo. Calcular o teor de esteviosídeo na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

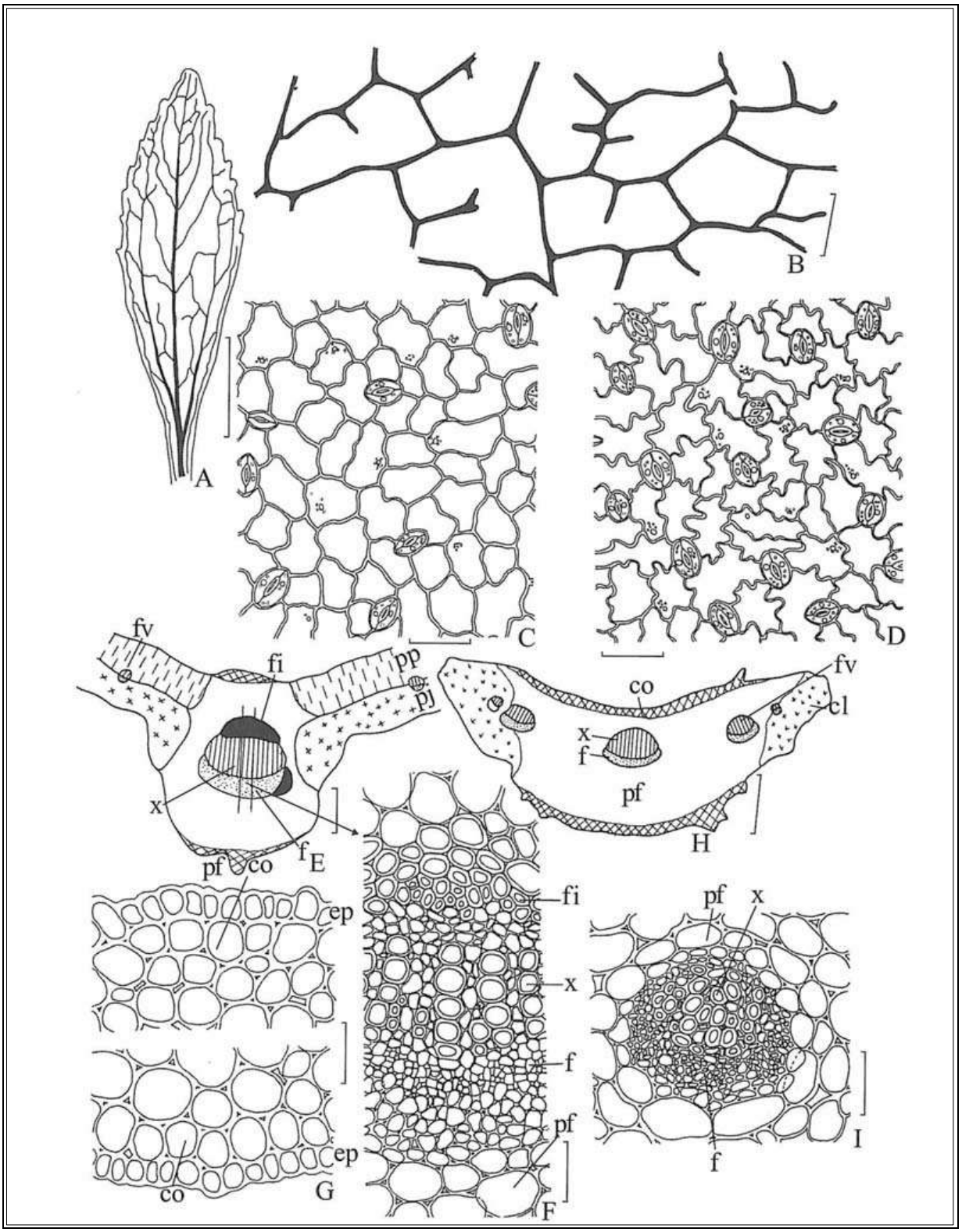


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

_____

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B**, **E e H** a 250 μm; em **C, D, G, F e I** a 50 μm.

A – aspecto geral da folha; **B –** detalhe da nervação foliar; **C –** detalhe da epiderme da face adaxial em vista frontal, mostrando estômatos; **D –** detalhe da epiderme da face abaxial em vista frontal, mostrando estômatos e células com paredes sinuosas; **E –** esquema da secção transversal da lâmina foliar na região da nervura principal, evidenciando feixe do tipo colateral: floema (f); fibras (fi); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); parêquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x). **F –** detalhe do feixe vascular da nervura principal em secção transversal como mostrado em **E**: floema (f); fibras (fi); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **G –** detalhe da epiderme e do colênquima na região da nervura principal voltada para a face adaxial e detalhe da epiderme e do colênquima na região da nervura

principal voltada para a face abaxial: colênquima (co); epiderme (ep). **H –** esquema da secção transversal da base da lâmina foliar na região da nervura principal, evidenciando feixe do tipo colateral: clorênquima (cl); colênquima (co); floema (f); feixe vascular (fv); xilema (x). **I –** detalhe do feixe vascular da região basal da lâmina foliar: floema (f); parênquima fundamental (pf); xilema (x).

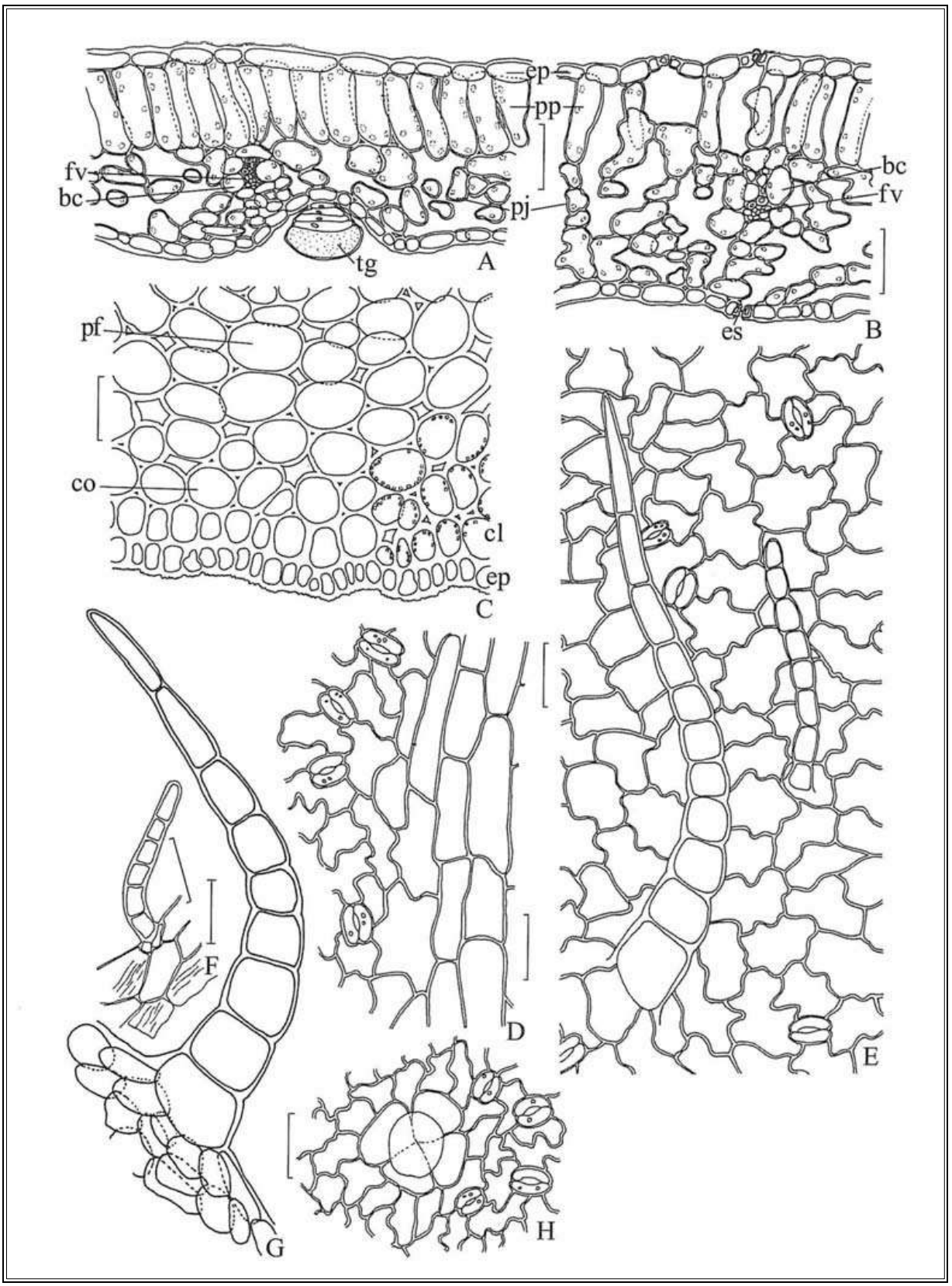


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

As escalas correspondem em **A** a **H** a 50 μm.

A – detalhe da lâmina foliar, em secção transversal: epiderme (ep); bainha vascular com cloroplastídios (bc); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma glandular (tg). **B –** detalhe da lâmina foliar, em secção transversal: estômato (es); epiderme (ep); bainha vascular com cloroplastídios (bc); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp). **C –** fragmento da porção basal da lâmina foliar em secção transversal ao nível da nervura principal, mostrando estrias epicuticulares: epiderme (ep); clorênquima (cl); colênquima (co); parênquima fundamental (pf); **D –** fragmento de epiderme em vista frontal, evidenciando estômatos e a variabilidade morfológica das células; **E –** fragmento da epiderme, em vista frontal, evidenciando estômatos e tricomas tectores; **F –** tricoma tector e células epidérmicas fundamentais mostrando estrias epicuticulares; **G –** tricoma tector com células basais alargadas; **H –** fragmento da epiderme, em vista frontal, destacando estômatos e tricoma glandular.

ESTRAMÔNIO, folha
Stramonii folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Datura stramonium* L. e de suas variedades, contendo, no mínimo, 0,25% de alcaloides totais calculados em hiosciamina ($C_{17}H_{23}NO_3$, 289,37).

CARACTERÍSTICAS

A folha tem odor desagradável.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Lâmina foliar ovalada ou ovalado-triangular, lobado-sinuosa, de ápice acuminado e base assimétrica, de coloração verde-acastanhada escura a verde-acinzentada escura, torcidas e encolhidas devido à secagem, finas e frágeis, com 15 a 20 cm de comprimento e 8 a 10 cm de largura. Venação pinada, com quatro a cinco nervuras secundárias alternadas, côncavas na face adaxial e proeminentes na face abaxial. Pecíolo medindo até 5 cm de comprimento. Folhas jovens pubescentes sobre as nervuras.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é dorsiventral e anfi-hipoestomática, com estômatos anisocíticos, raramente anomocíticos. A epiderme, em vista frontal, apresenta células poligonais, de paredes anticlinais retas a levemente ondeadas, espessas. Os tricomas tectores e glandulares são mais abundantes na face abaxial e sobre as nervuras. Os tricomas tectores são pluricelulares, unisseriados, cônicos, formados por duas a cincocélulas alongadas de paredes finamente verrucosas; os tricomas glandulares são, em geral, curtamente pedicelados, com glândula apical ovoide ou claviforme, formada por duas a setecélulas. A epiderme, em secção transversal, apresenta-se uniestratificada e é recoberta por uma cutícula lisa e delgada. O mesofilo consiste de parênquima paliçádico composto de uma camada de células e de parênquima esponjoso. Entre os dois parênquimas encontram-se uma ou mais camadas de idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio. Os feixes vasculares são bicolaterais.

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 com células de paredes anticlinais retas a levemente ondeadas e com cutícula lisa; fragmentos de epiderme com estômatos anisocíticos e ou anomocíticos mais frequentes na epiderme abaxial; tricomas tectores cônicos pluricelulares unisseriados e tricomas glandulares curtos e claviformes e ou ovoides; fragmentos do parênquima paliçádico e ou esponjoso em secção transversal; fragmentos de elementos de vaso anelados e espiralados; fragmentos de parênquima com numerosos idioblastos contendo drusas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

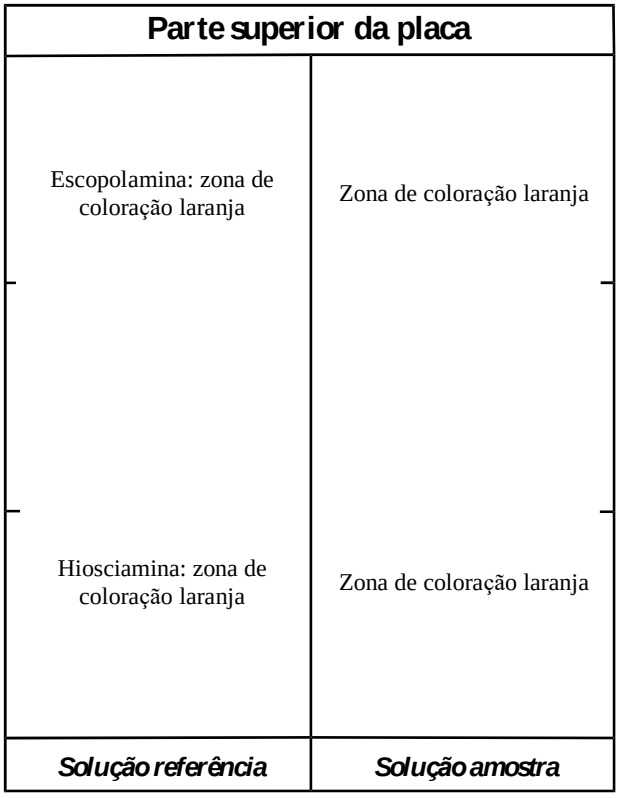
Fase móvel: acetona, água e solução concentrada de amônia (90:7:3).

Solução amostra: a 1 g da amostra pulverizada adicionar 10 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M*, agitar durante 15 minutos e filtrar. Lavar o filtro com ácido sulfúrico 0,05 *M*, até a obtenção de 25 mL de filtrado. Ao filtrado adicionar 1 mL de solução concentrada de amônia e agitar duas vezes com 10 mL de éter etílico isento de peróxido de cada vez. Separar por centrifugação, se necessário. Reunir as camadas etéreas, secar sobre sulfato de sódio anidro, filtrar e evaporar à secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de álcool metílico.

Solução referência: 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. Misturar 3,8 mL de solução de sulfato de hiosciamina, 4,2 mL de solução de bromidrato de escopolamina e completar com 10 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e secar em temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Deixar esfriar e nebulizar a placa com iodobismutato de potássio SR2 até aparecimento de bandas alaranjadas ou castanhas sobre o fundo amarelo. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR até que a camada se torne transparente. Examinar após 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.



TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0% de caules com um diâmetro superior a 5 mm.

Água (5.2.9.1). No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 20,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). 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.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Alcaloides totais

Pesar cerca de 10 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 a 96% (v/v) 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 a mistura com 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 de solução de ácido sulfúrico 0,25 *M* e verificar a ausência de alcaloides com iodeto de potássio mercúrico SR. Reduzir o volume do percolado até 50 mL e transferir para um funil de separação com auxílio de éter etílico 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 a 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 8,0 - 9,0 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 em 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, usando vermelho de metila SI como indicador. Calcular o teor de alcaloides totais, expressos em hiosciamina, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em hiosciamina % (p/p);
v = volume em mililitros de hidróxido de sódio 0,02 *M* SV utilizado;
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.

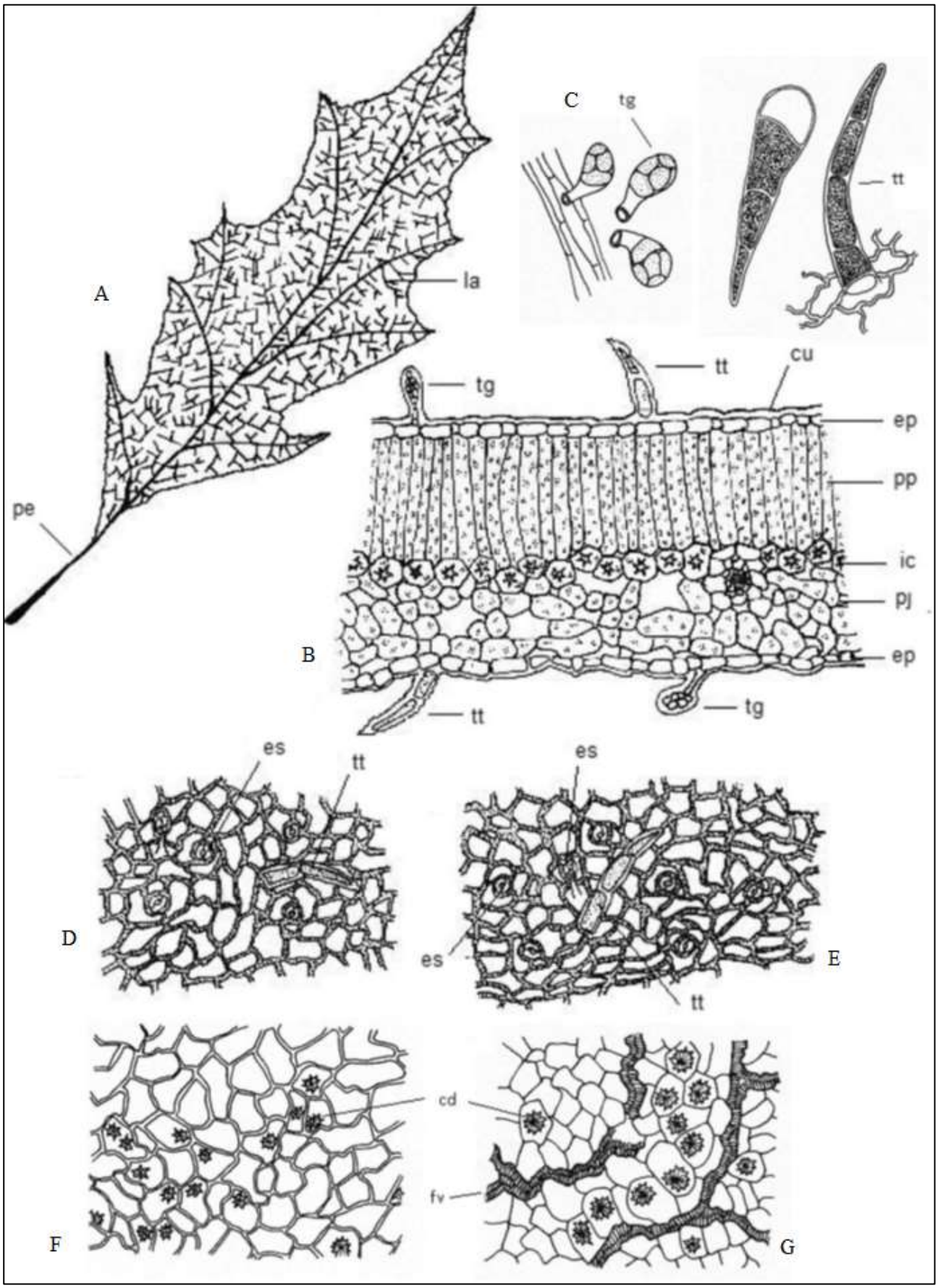


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Datura stramonium* L.

_____

As escalas correspondem em **A** a 5 mm, em **B**-**D** a 20 µm.

A. representação esquemática da folha, em vista frontal; lâmina (la); pecíolo (pe). **B.** detalhe de porção da lâmina foliar, em secção transversal; cutícula (cu); epiderme (ep); idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (ic); parênquima

esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **C.** tricomas ou porções destes, isolados; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D.** detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal; estômato (es); tricoma tector (tt). **E.** detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal: estômato (es); tricoma tector (tt). **F.** fragmento da epiderme em vista frontal, na face adaxial, mostrando cristais por transparência; cristal do tipo drusa (cd). **G.** fragmento da epiderme em vista frontal, na face abaxial, mostrando cristais e porções de elementos de vaso por transparência; cristal do tipo drusa (cd); feixe vascular (fv).

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.

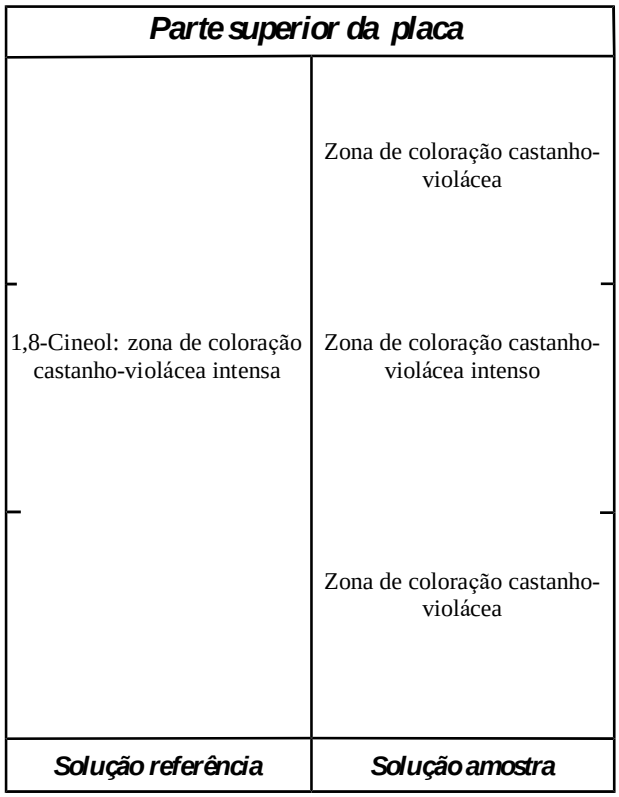
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (9:1).

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 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 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.



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.

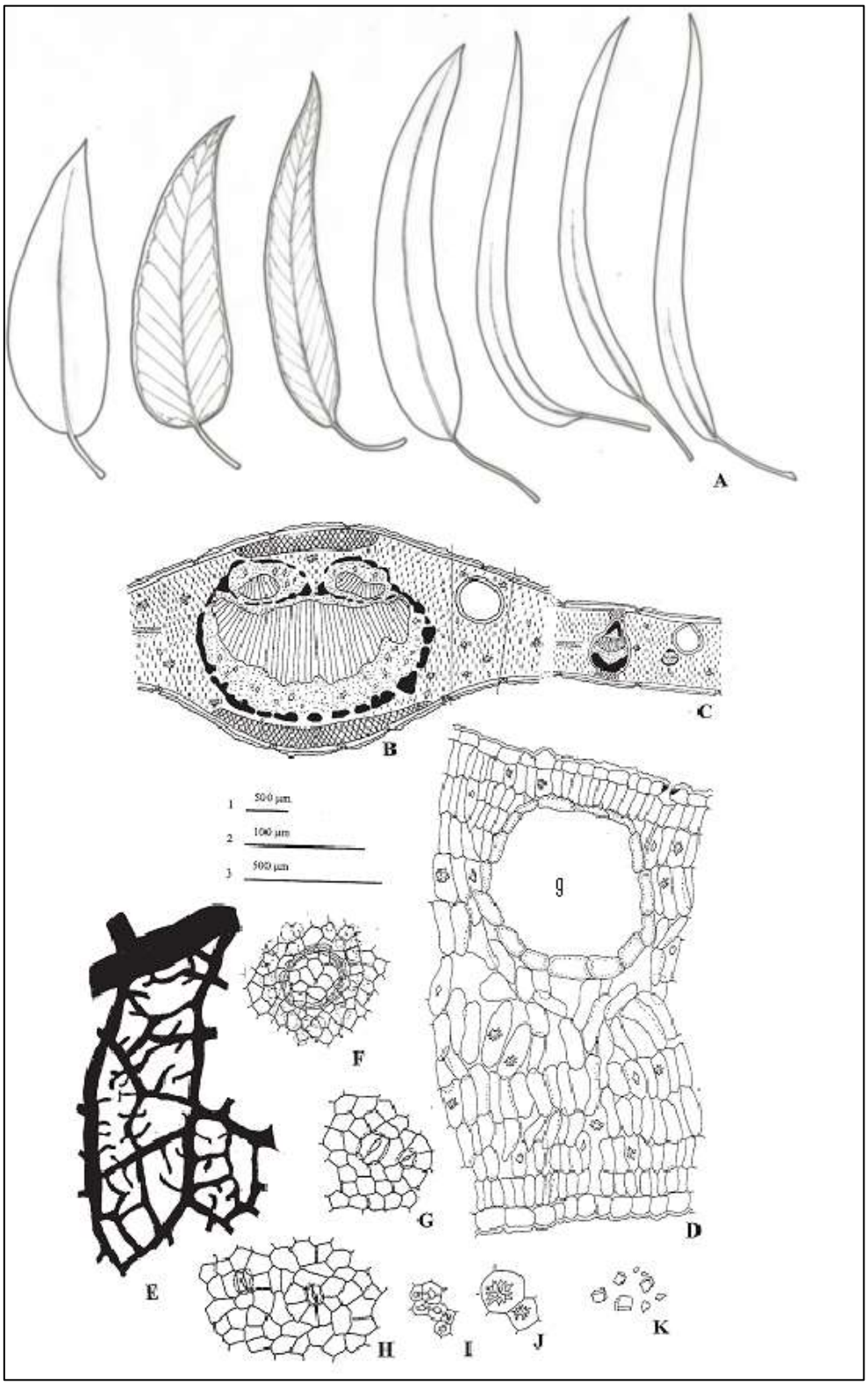


Figura 1–Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eucalyptus globulus* Labill.

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

A – morfologia da folha. **B-D** – secção transversal da lâmina foliar. **B** – esquema da nervura principal. **C** – esquema do mesofilo 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 secção 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 GF_{254}.

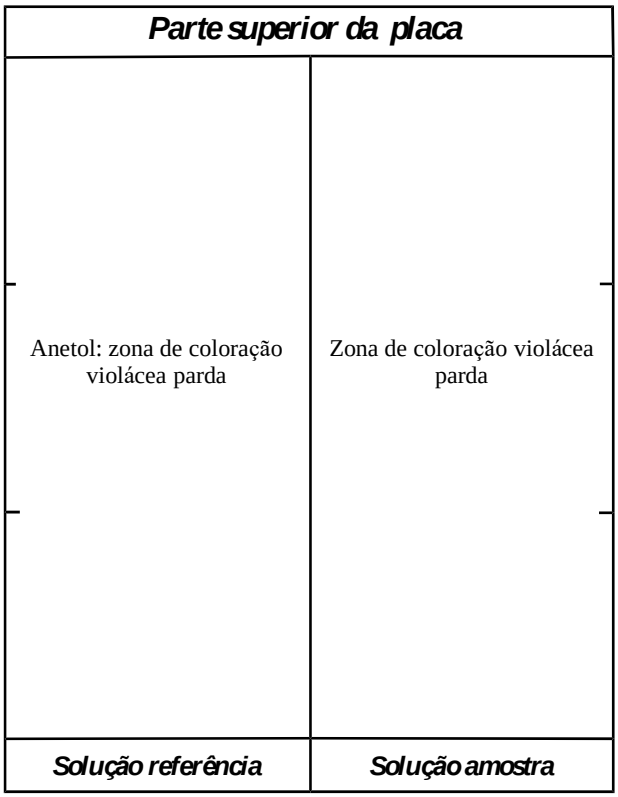
Fase móvel: tolueno e hexano (80:20).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo volátil da amostra cm tolueno em balão volumétrico de 10 mL.

Solução referência: diluir 10 µL de anetol em 10 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. 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.



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 (ºC)
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 60%; fenchona, no máximo 15%; e estragol, no máximo 5%.

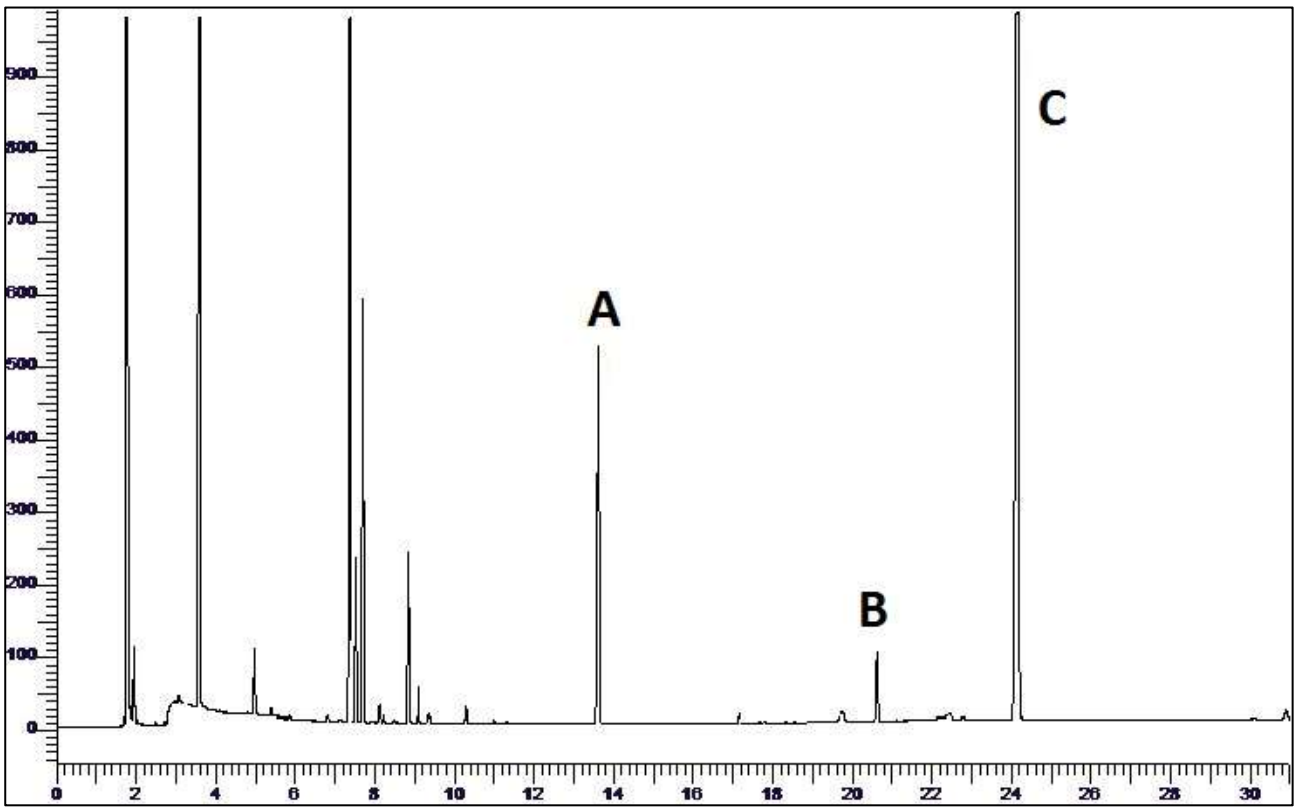


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare* por cromatografia gasosa. A - fenchona; B - estragol e C - anetol.

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 clevenger. 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.

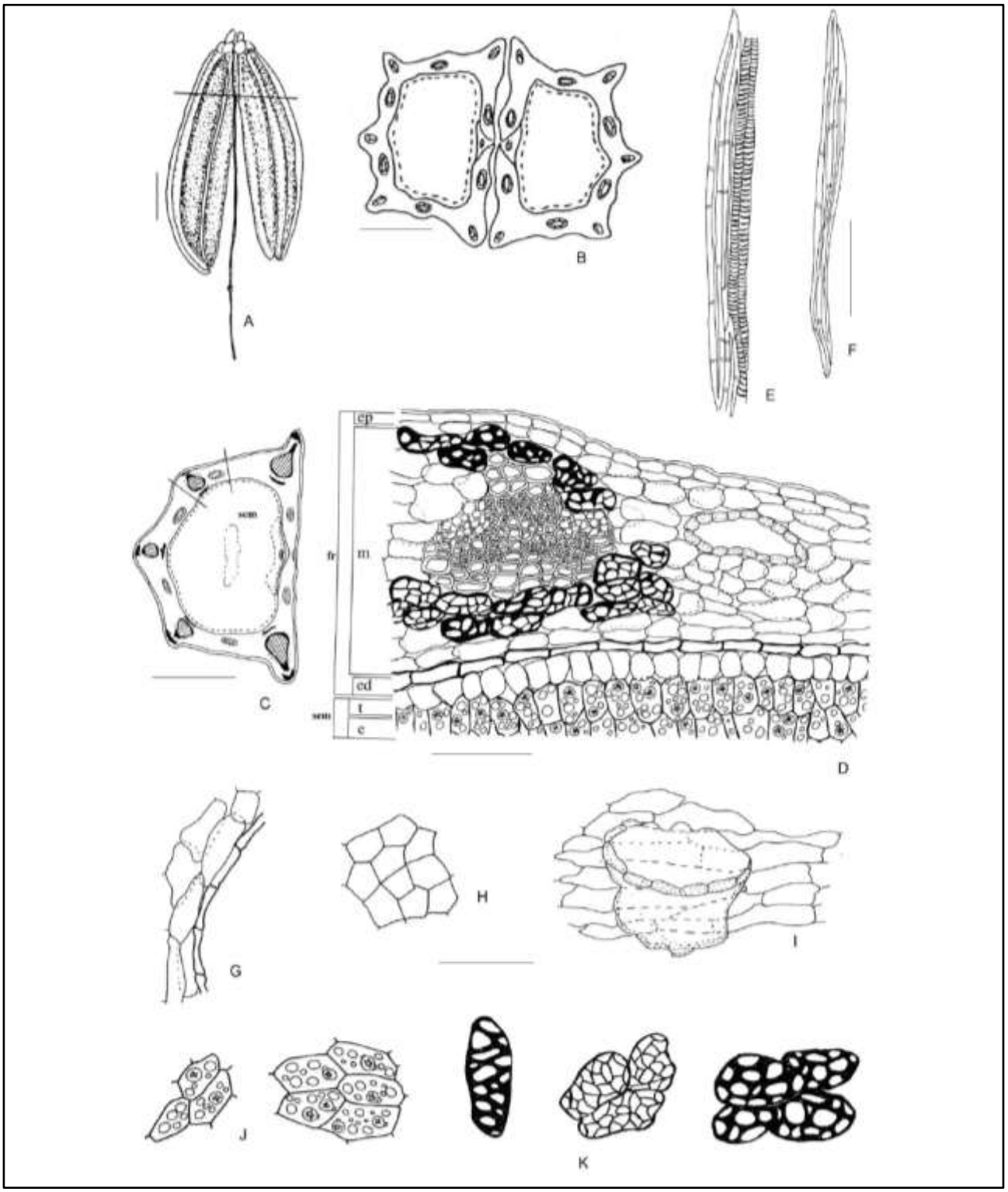


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare*

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 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, que caracterizam o anis-doce.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

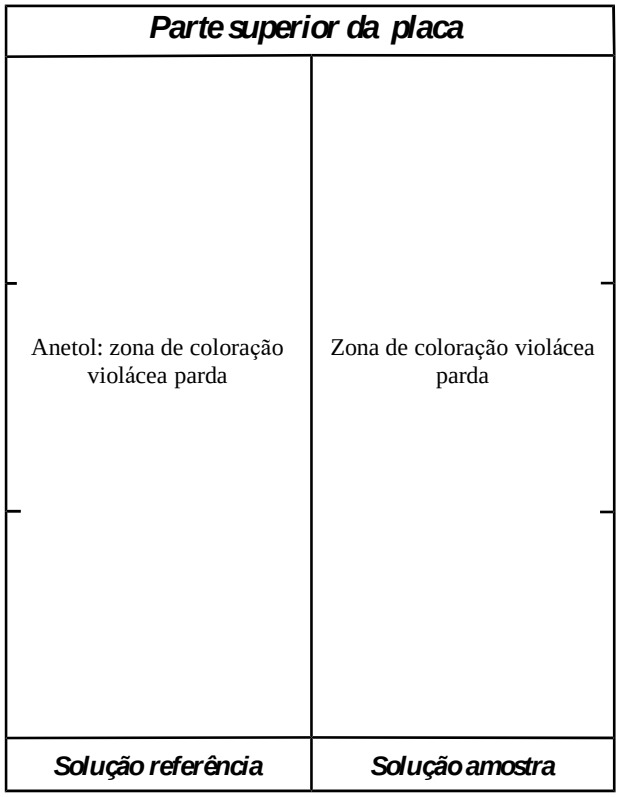
Fase móvel: tolueno e hexano (80:20).

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 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 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.



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 (ºC)
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%.

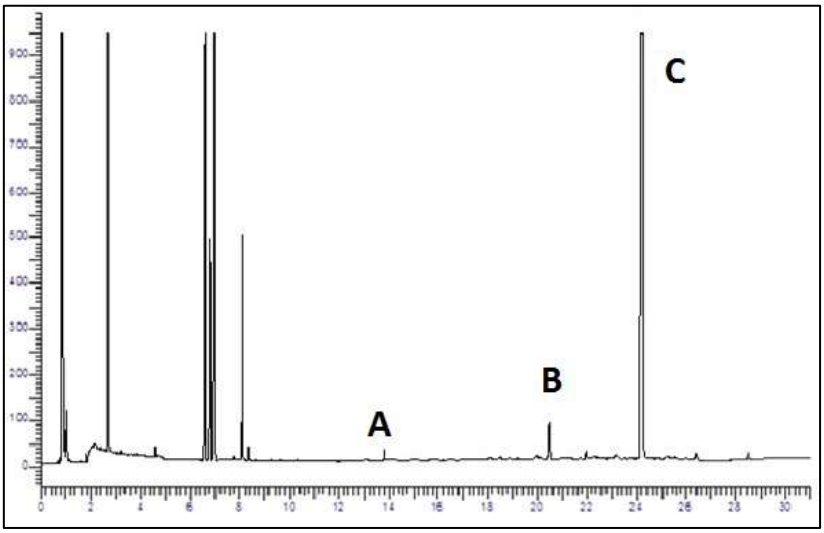


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *dulce* (Mill.) Thelung por cromatografia a gás. A - fenchona, B - estragol e C - anetol.

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 (≤ 1400 µm) **(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.

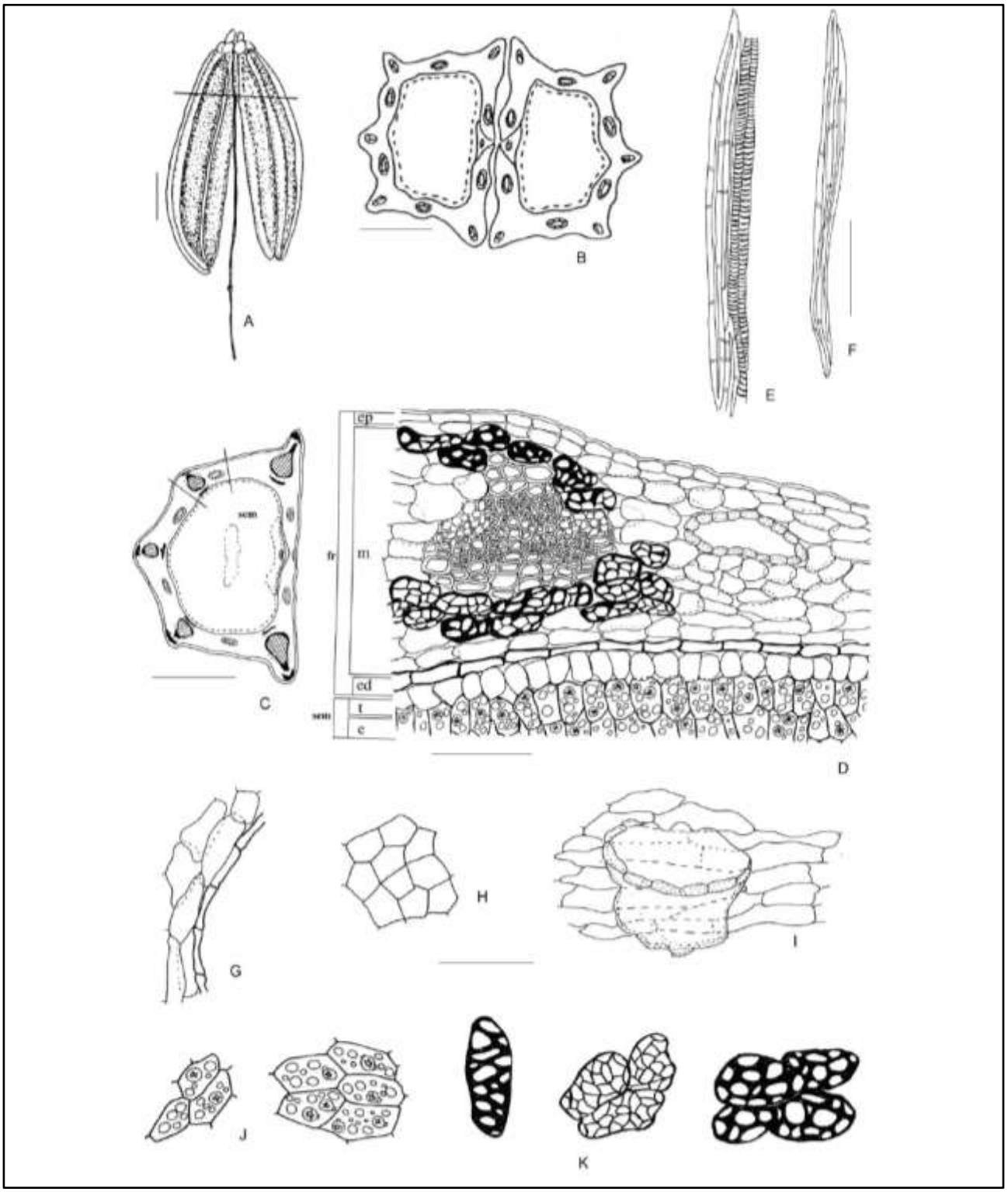


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare*

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.

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 ($C_{24}H_{30}O_{11}$, 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 GF_{254}, com espessura de 0,25 mm.

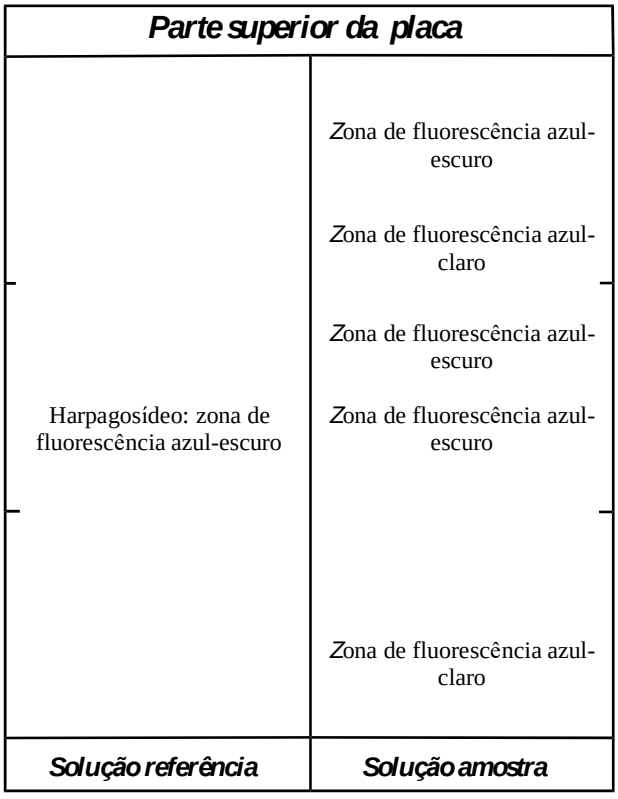
Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e água (77:15:8).

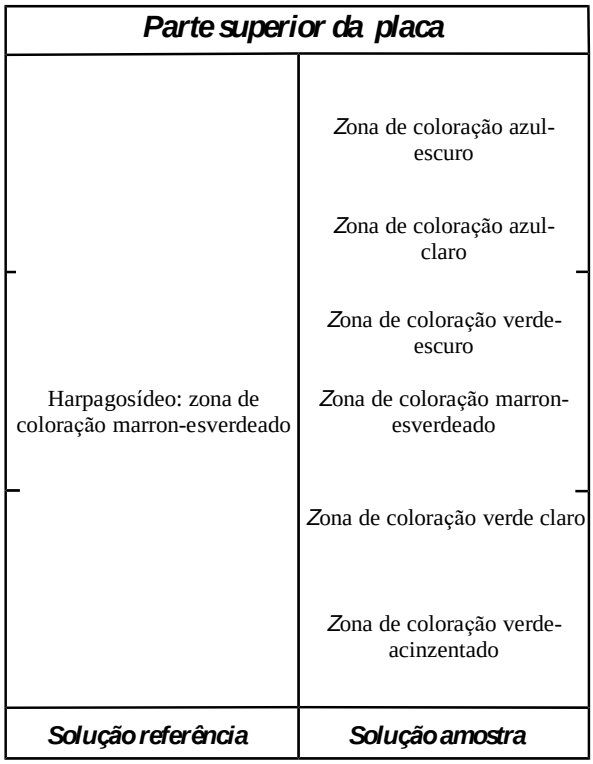
Solução amostra: aquecer durante 10 minutos, 1 g da droga vegetal pulverizada (355 µm) **(5.2.11)** com 10 mL de álcool metílico utilizando banho-maria a temperatura de 60 °C. Filtrar e concentrar o filtrado para 2 mL, sob vácuo, em temperatura inferior a 40 °C.

Solução referência: dissolver 1 mg de harpagosídeo em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na 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. 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.





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 ºC 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:

$$\mathrm{TH} = \frac{\mathrm{C}_a \times 100}{m \times 3}$$

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;
3 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

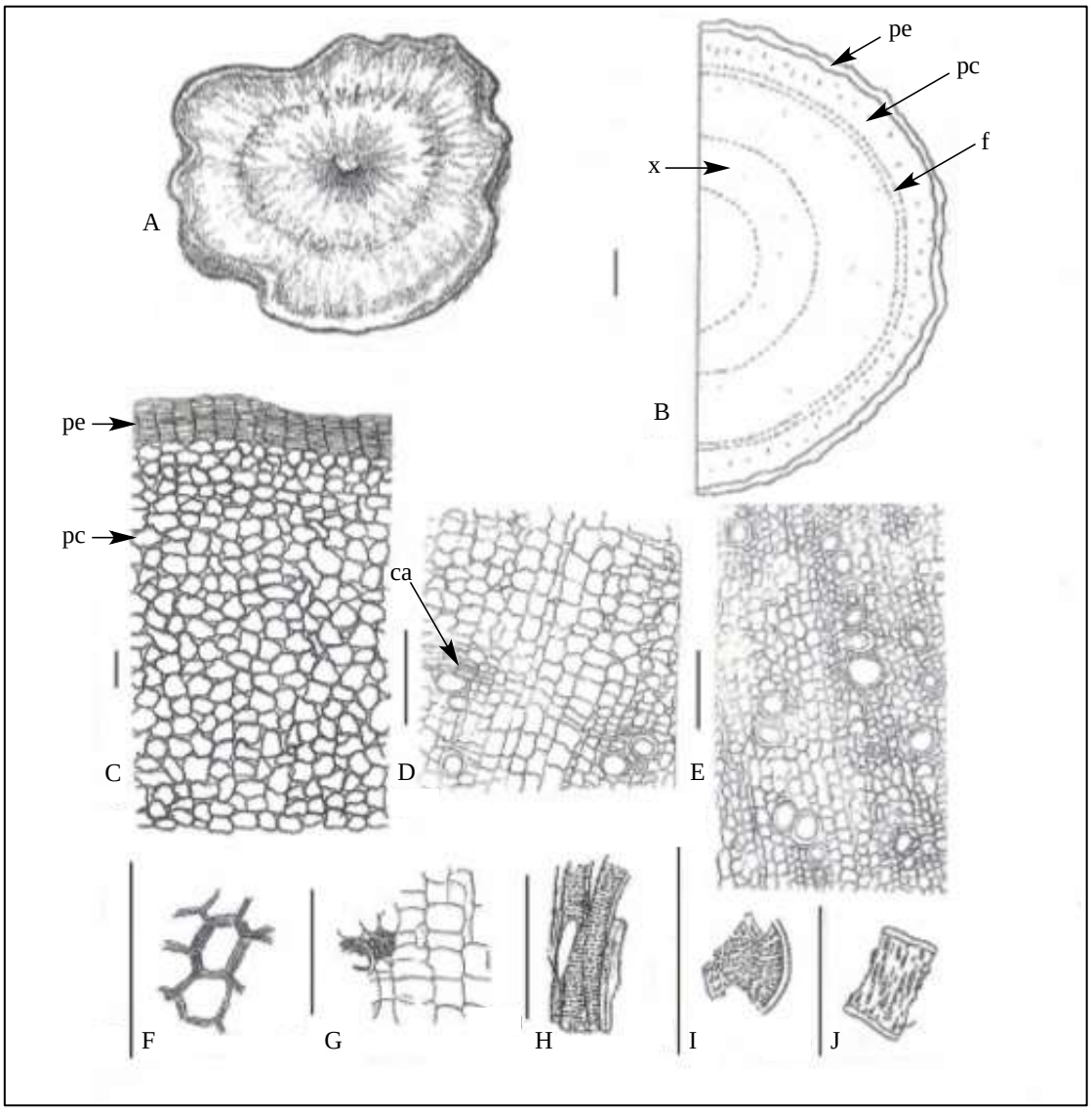


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn.

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 ($C_{16}H_{20}O_9$, 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 GF_{254}.

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e água (77:15:8).

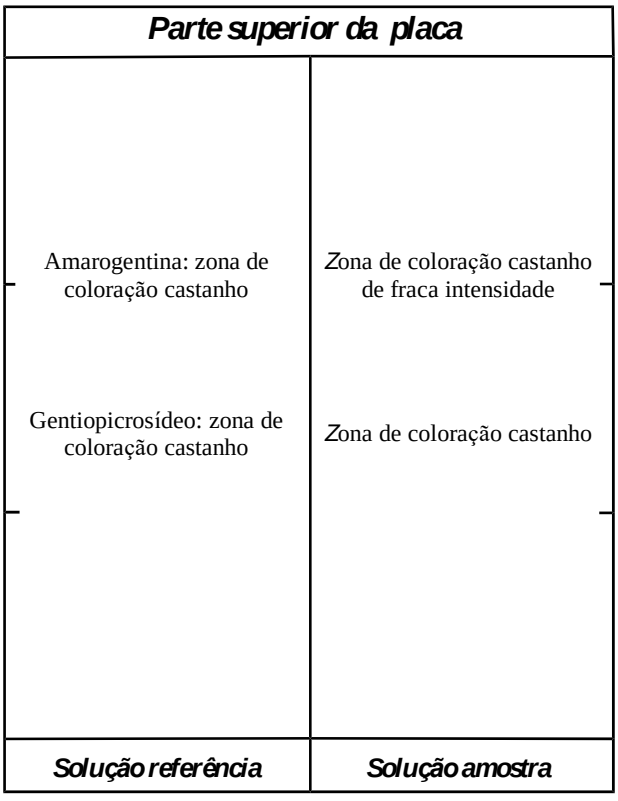
Solução amostra: adicionar 10 mL de álcool metílico em 1 g da droga pulverizada (355 µm) **(5.2.11)** e agitar durante 20 minutos. Filtrar e secar até resíduo em banho-maria em temperatura não superior a 50 °C. Suspender o resíduo em 2,5 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosídeo 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. 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.



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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TG} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 10 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

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.

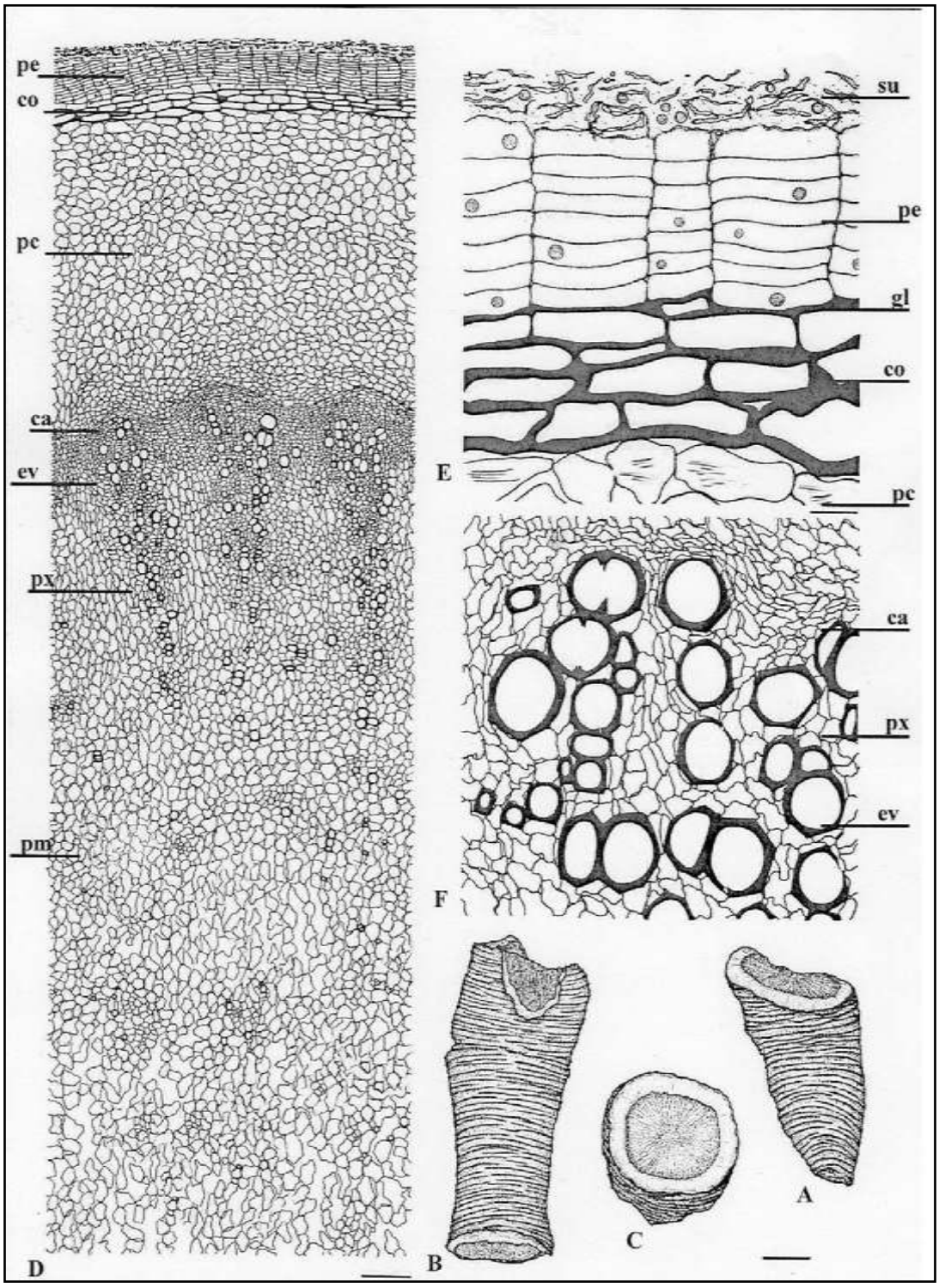


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Gentiana lutea* L.

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).

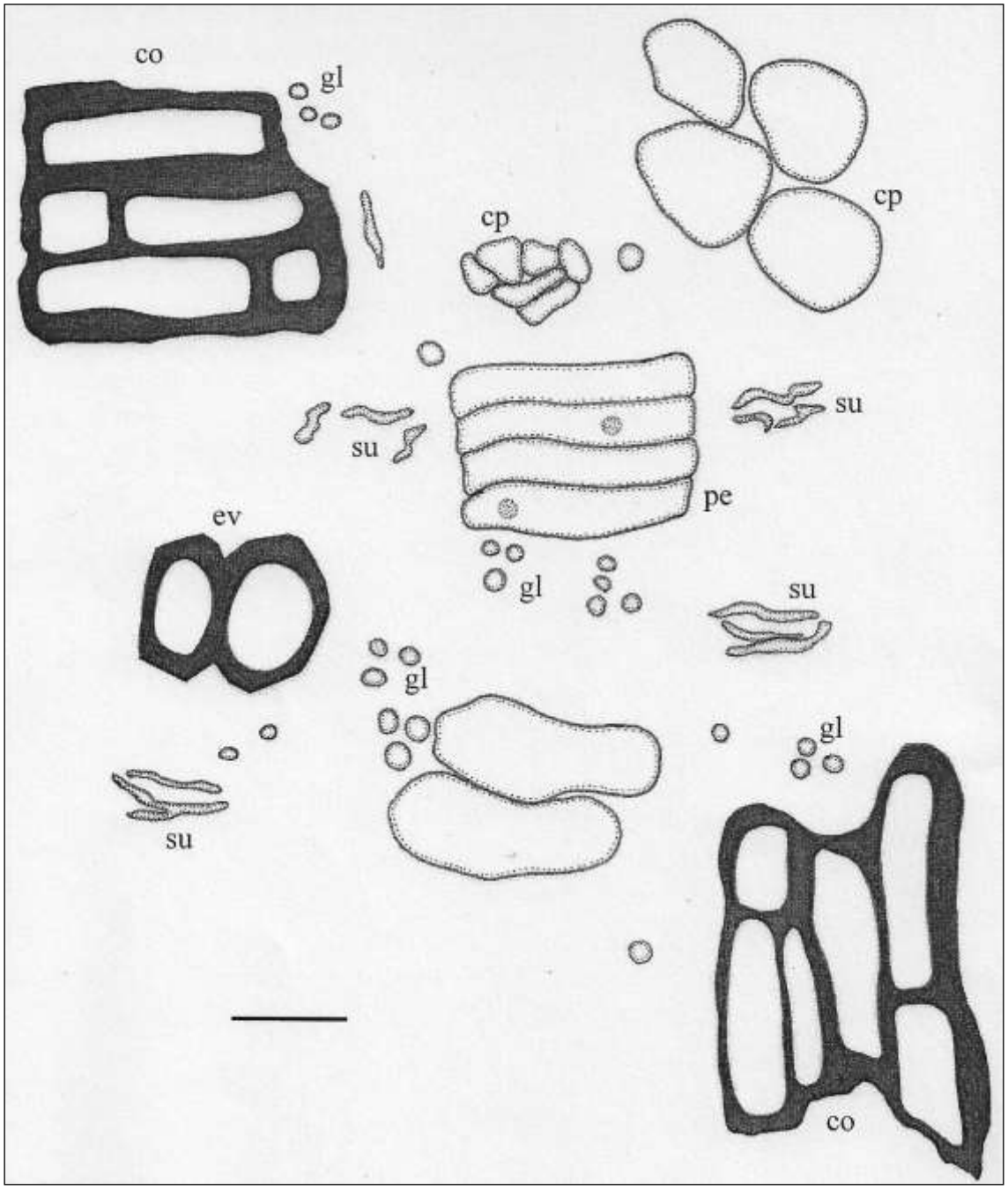


Figura 2 - Aspectos microscópicos do pó em *Gentiana lutea* L.

A escala corresponde a 50 µm.
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 GF_{254}.

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 ºCe 105 ºC por três minutos.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 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 solução de anisaldeído sulfúrico a 10% (v/v) e aquecer entre 100 ºC e 105 ºC 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.

Parte superior da placa	
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 violáceae 8-gingerol: zona de coloração azul violáceae 6-gingerol: zona de coloração azul violáceae Capsaicina: zona de coloração azul	Zona de coloração azul violácea Zona de coloração azul violácea Zona de coloração azul violácea
Solução referência	***Solução amostra***

TESTES

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%

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.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). 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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

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

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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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;
tr_1 = tempo de retenção do primeiro pico;
tr_2 = tempo de retenção do segundo pico;
wr_1 = largura do primeiro pico medida a meia altura;
wr_2 = largura do segundo pico medida a meia altura.

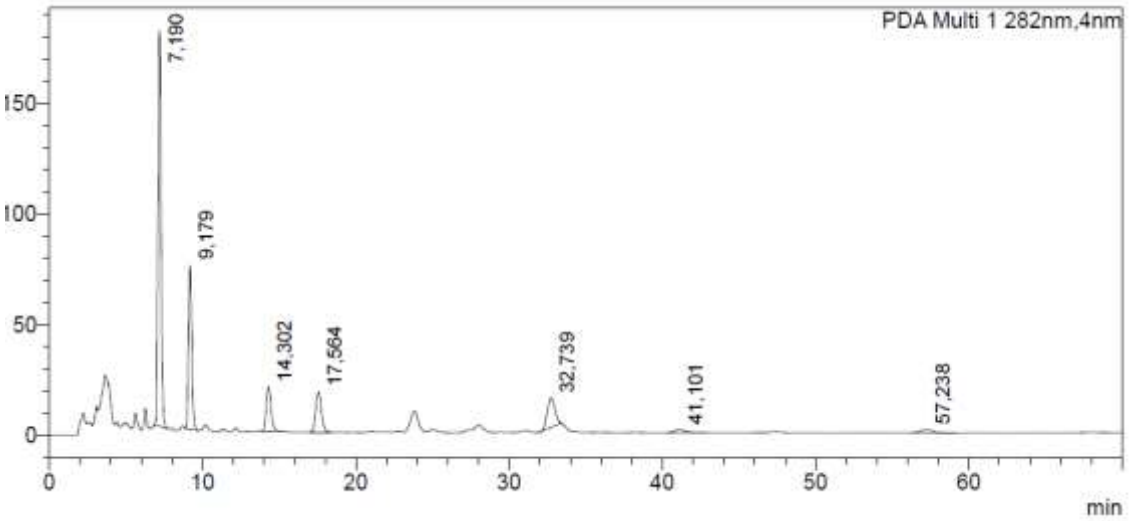


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo de extrato etanólico de *Zingiber officinale* em 282 nm. Em tempo de retenção (tr) de aproximadamente sete minutos, visualiza-se o pico referente ao 6-gingerol; em tr nove minutos, capsaicina; em tr 14 minutos, 8-gingerol; em tr 17 minutos, 6- shogaol; em tr 32 minutos,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

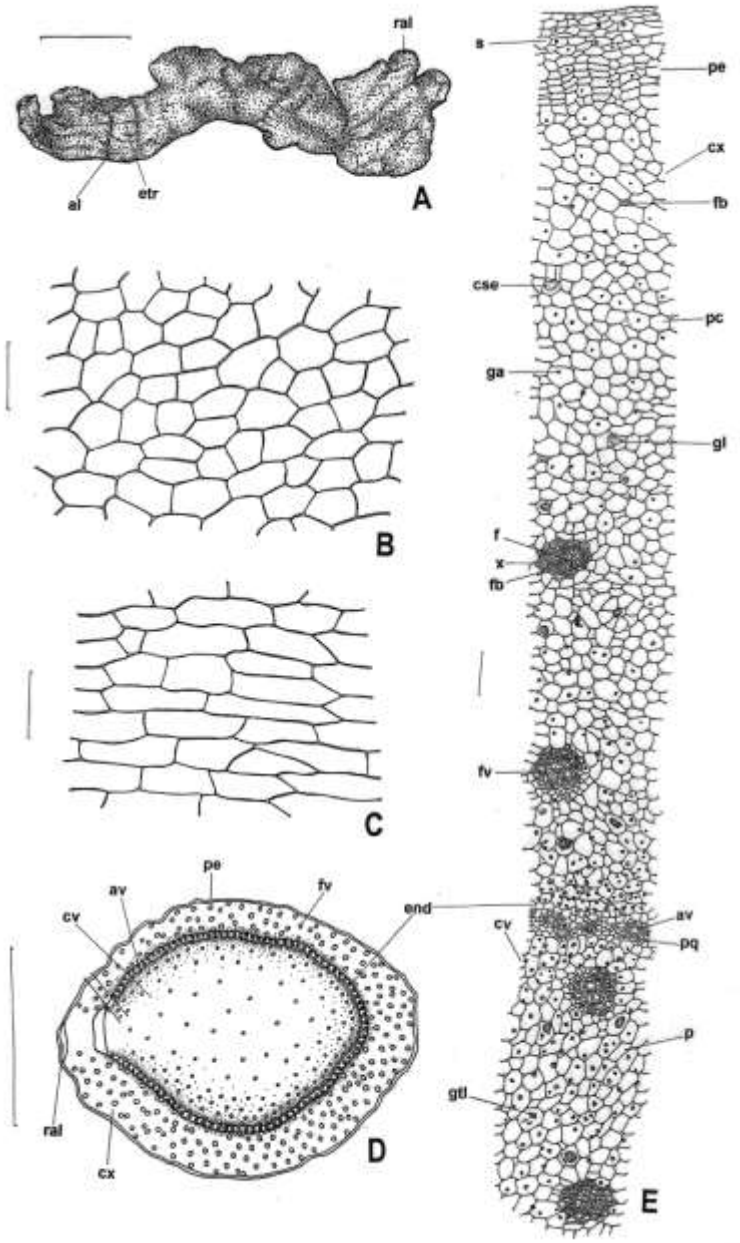
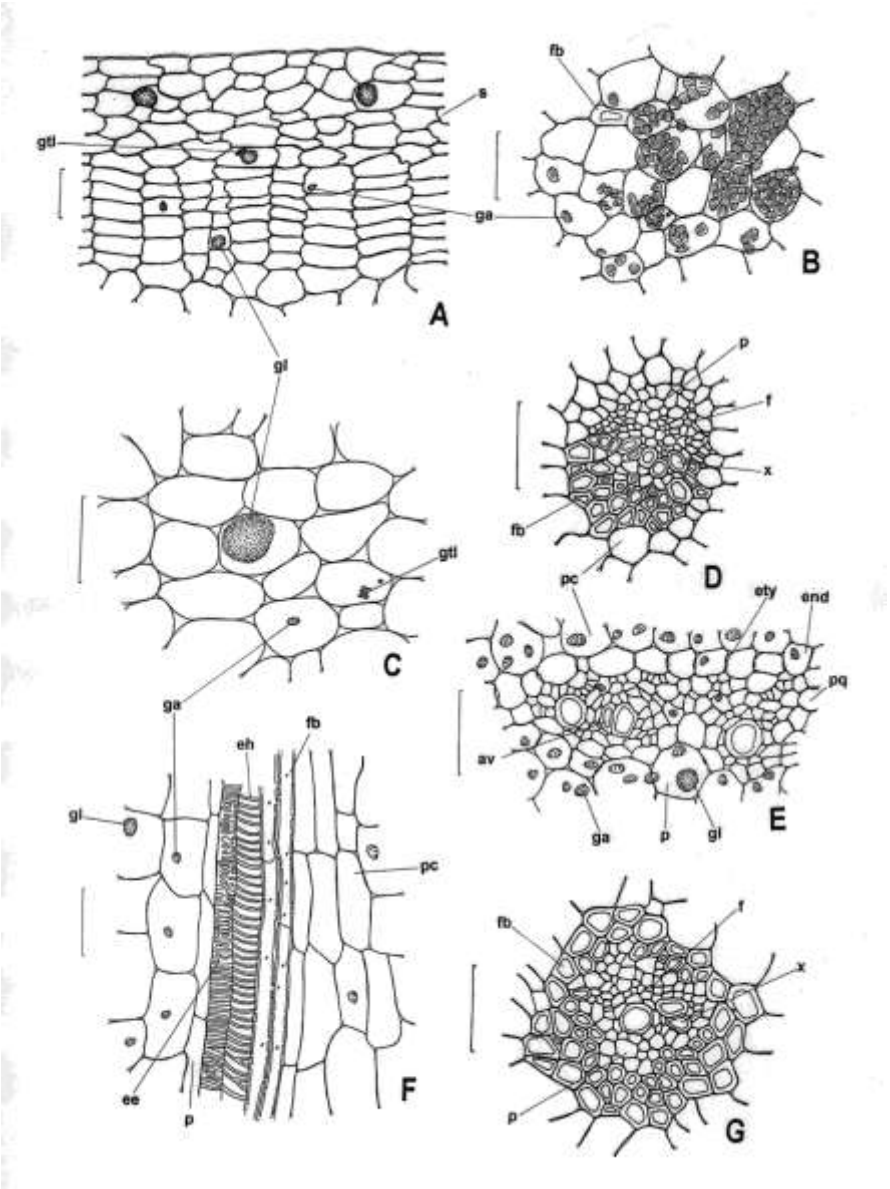


Figura 2 - Aspectos macroscópicos e microscópicos do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe.

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.

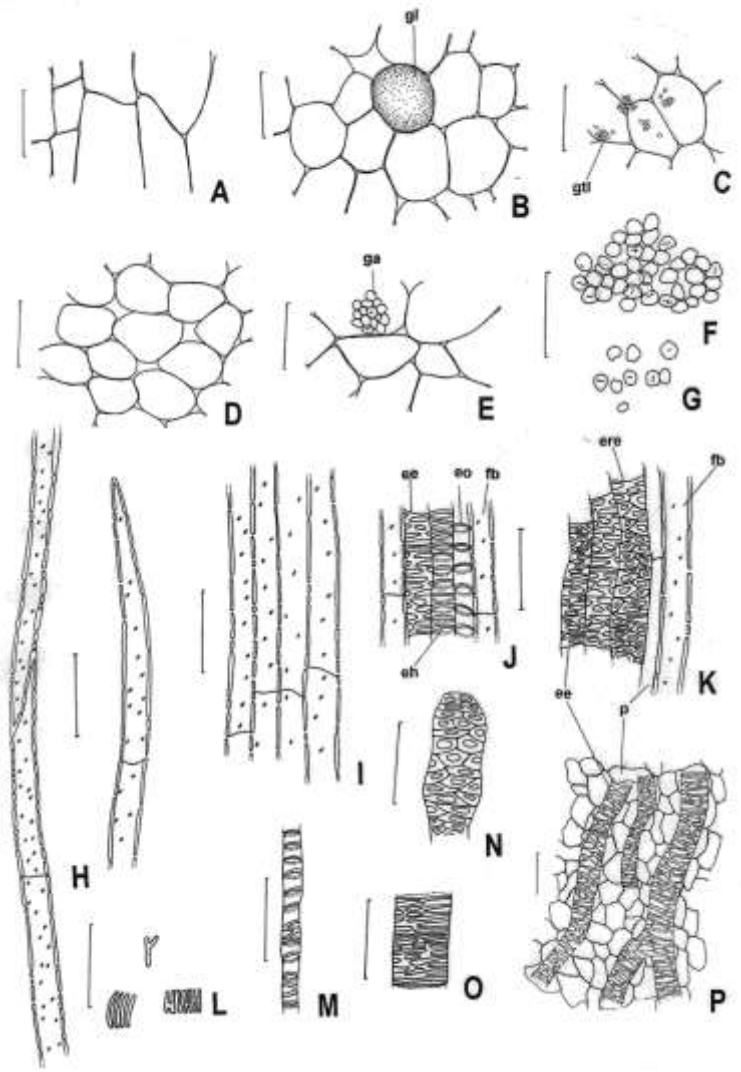


Figura 4 - Aspectos microscópicos do pó de *Zingiber officinale* Roscoe.

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 ($C_{15}H_{10}O_7$, 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, hipoestomática; 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 GF_{254}.

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico, água e ácido fórmico (20:2,7:2:0,2).

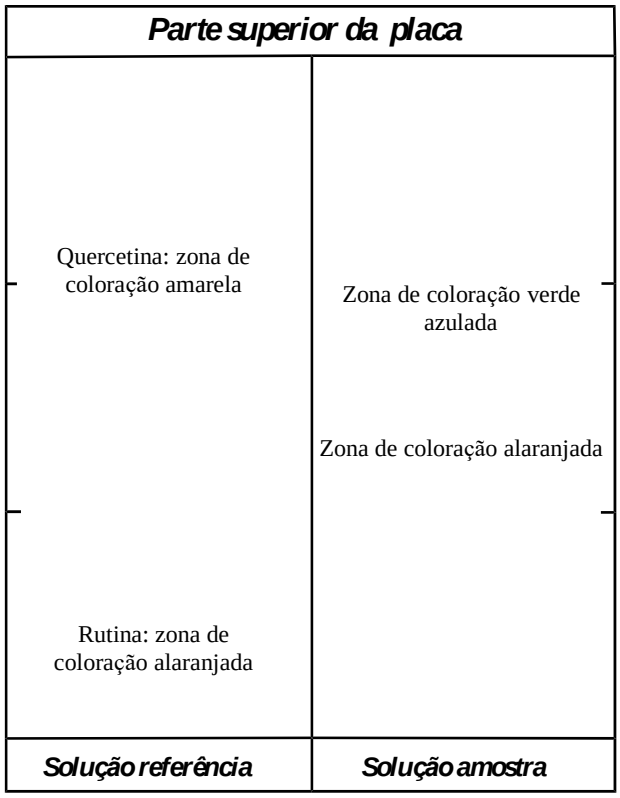
Solução amostra: transferir 0,2 g da droga pulverizada (355) **(5.2.11)** com 10 mL de álcool metílico para balão de fundo redondo de 50 mL. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 15 minutos. Resfriar e filtrar. Evaporar o solvente em banho-maria. Suspender o resíduo em 2 mL de álcool metílico.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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.



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:

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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.*

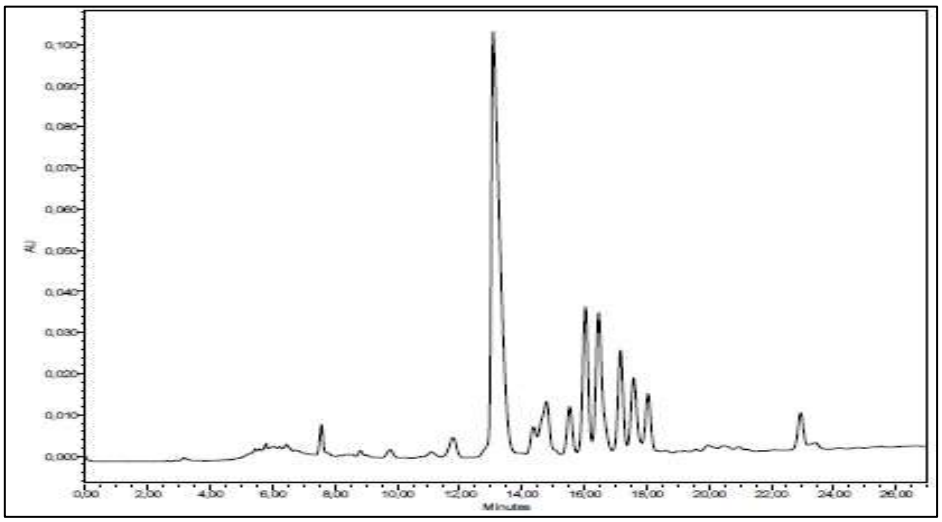


Figura 1– Perfil ilustrativo do extrato metanólico das folhas de *Psidium guajava* L.

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 µm), mantida a temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

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

Eluente (B): álcool metílico.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
0 – 3	60	40	isocrática
3 – 15	60 → 0	40 → 100	gradiente linear
15 – 16	0 → 60	100 → 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 µm) **(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:

$$\mathrm{TQ} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 10 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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.

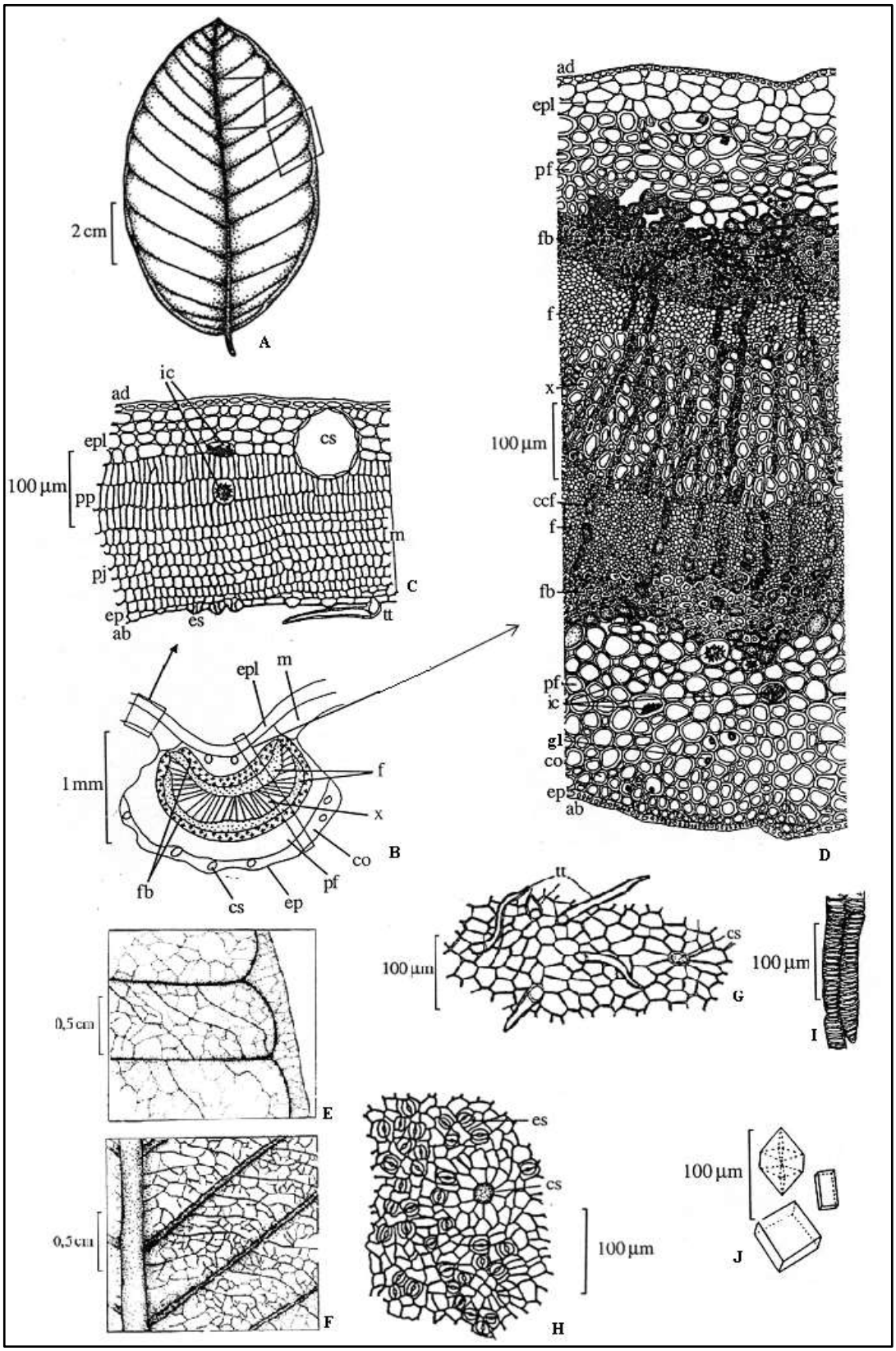


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Psidium guajava* L.

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 µm.

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 ($C_9H_6O_2$, 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 hipoestomática 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 paliçádico 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 F_{254}.

Fase móvel: tolueno e éter etílico (1:1).

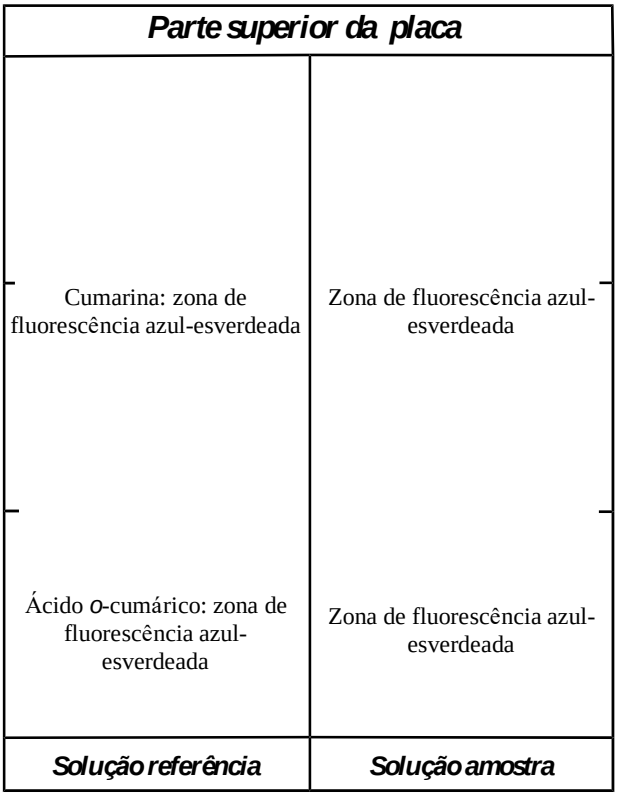
Solução amostra: agitar 0,1 g da droga em 3 mL de álcool etílico durante 10 minutos. Filtrar o extrato.

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.



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 C*romatografia 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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 25 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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.

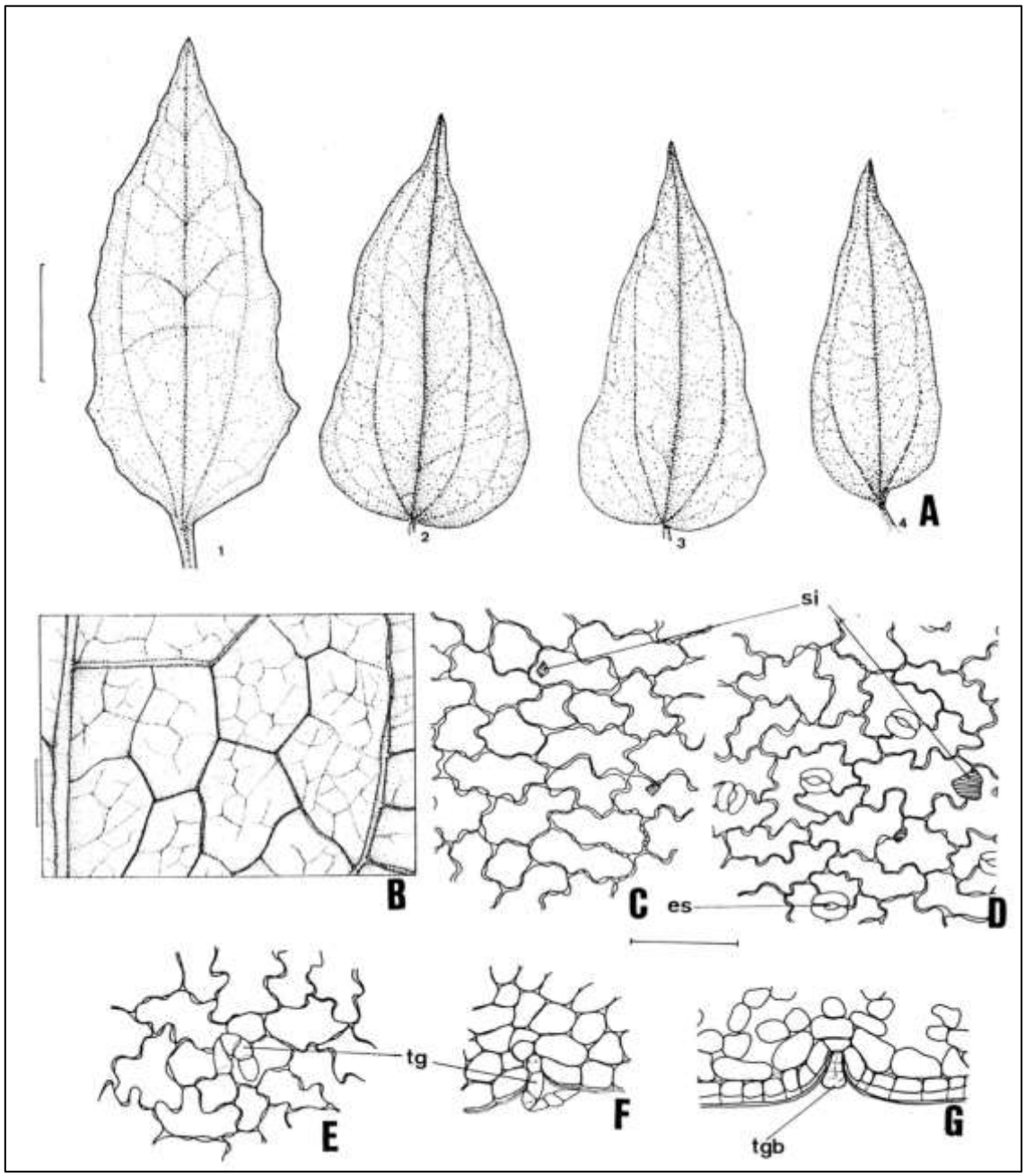


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e da microscopia do pó em *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker

As escalas correspondem: em **A** a 3 cm; em **B** a 2 mm; em **C, D, E, F** e **G** a 100 μm.

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

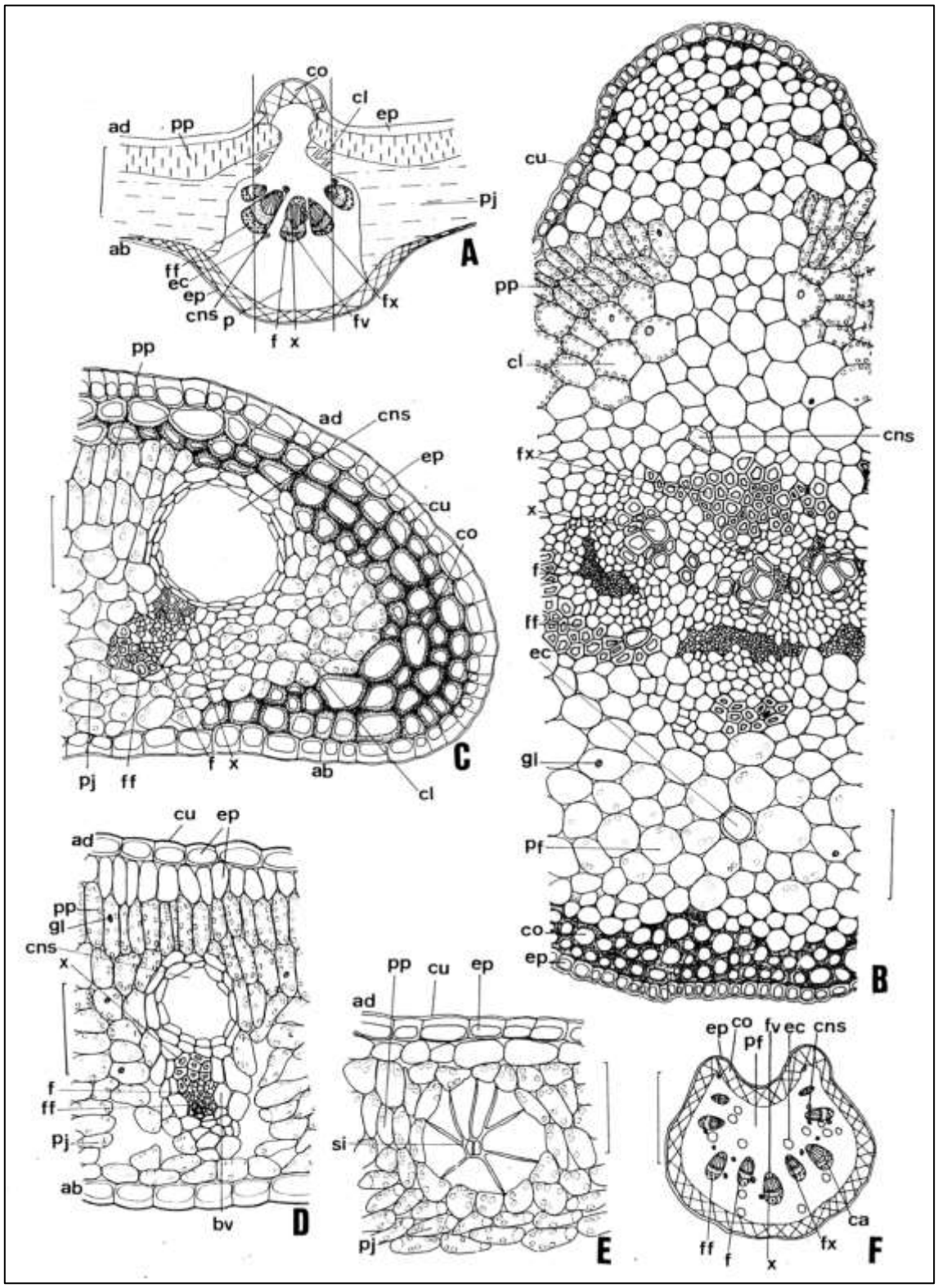


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker

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-escura. A cicatriz do arilo mantem-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. Contêm 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 GF_{254}.

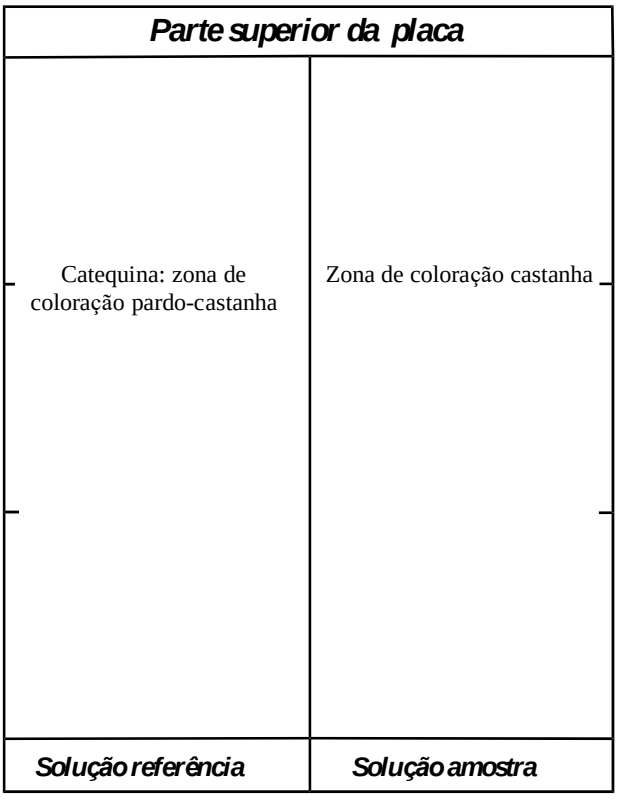
Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (70:30:5).

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 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 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.



Caracterização da presença de metilxantinas

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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

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.

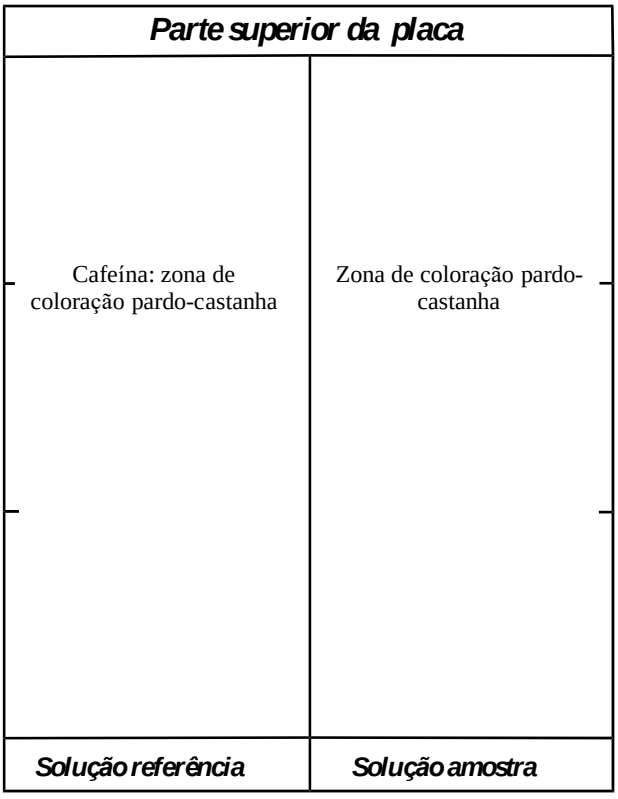
Solução referência: solução a 1 mg/mL de cafeína em álcool metílico.

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

Revelador (2): iodo SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 a 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 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.



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 ºC a 90 ºC, 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:

$$\mathrm{TT} = \frac{(\mathrm{A}_1 - \mathrm{A}_2) \times m_2 \times 62{,}5}{\mathrm{A}_3 \times m_1}$$

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 S*olução 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 µm) **(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 500 µg/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:

$$\mathrm{TM} = \frac{\mathrm{A}_a \times \mathrm{C}_r}{\mathrm{A}_r \times m \times 10}$$

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 µg/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 C*romatografia 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); 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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 25 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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.

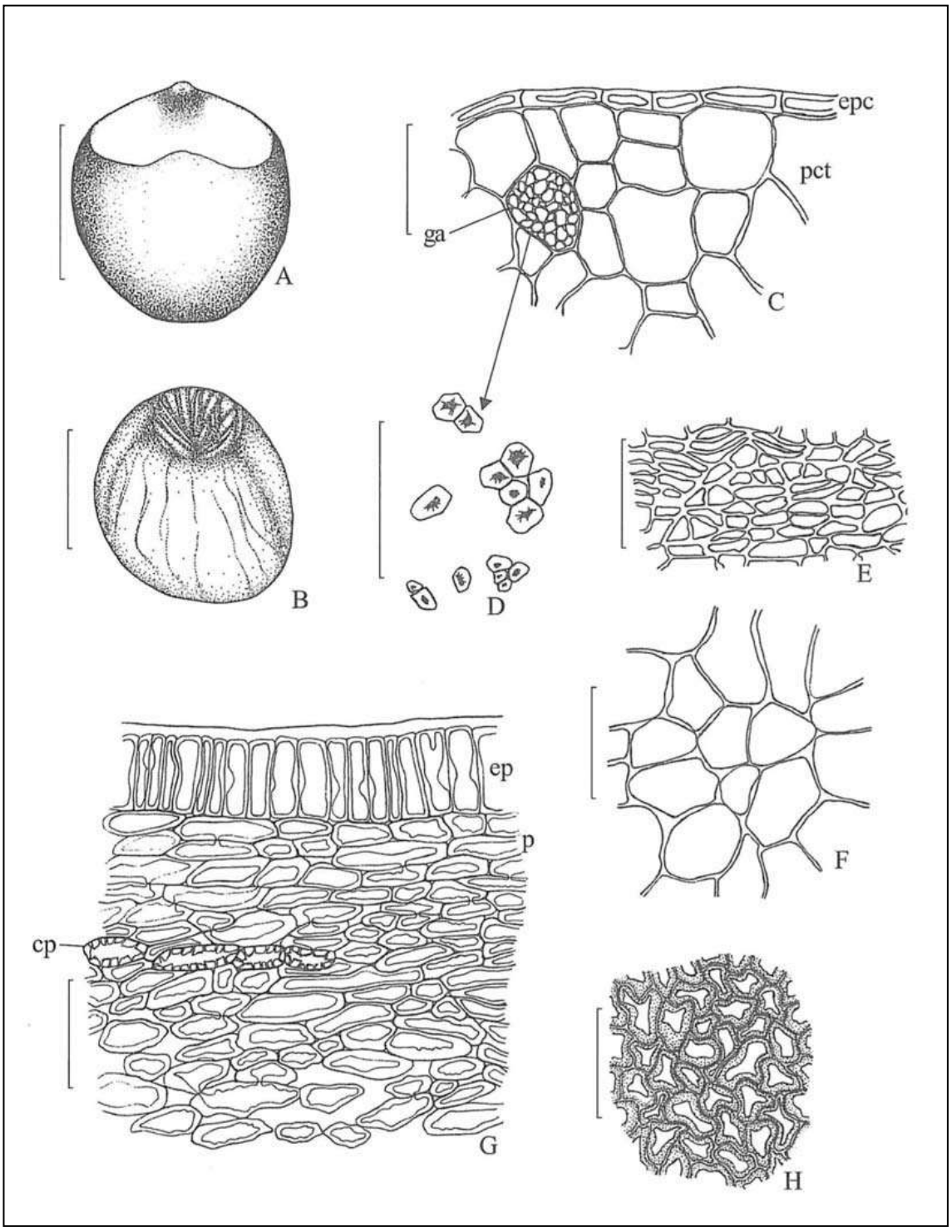


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Paullinia cupana* Kunth

As escalas correspondem: em A e B (4 mm), em C até H (100 μm).

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 ($C_6H_6O_3$, 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 peninérvea, com nervura principal saliente na face abaxial, nervuras secundárias alternas e retilíneas, 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. Astroesclereídes 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 F_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (6:2:2:1,5).

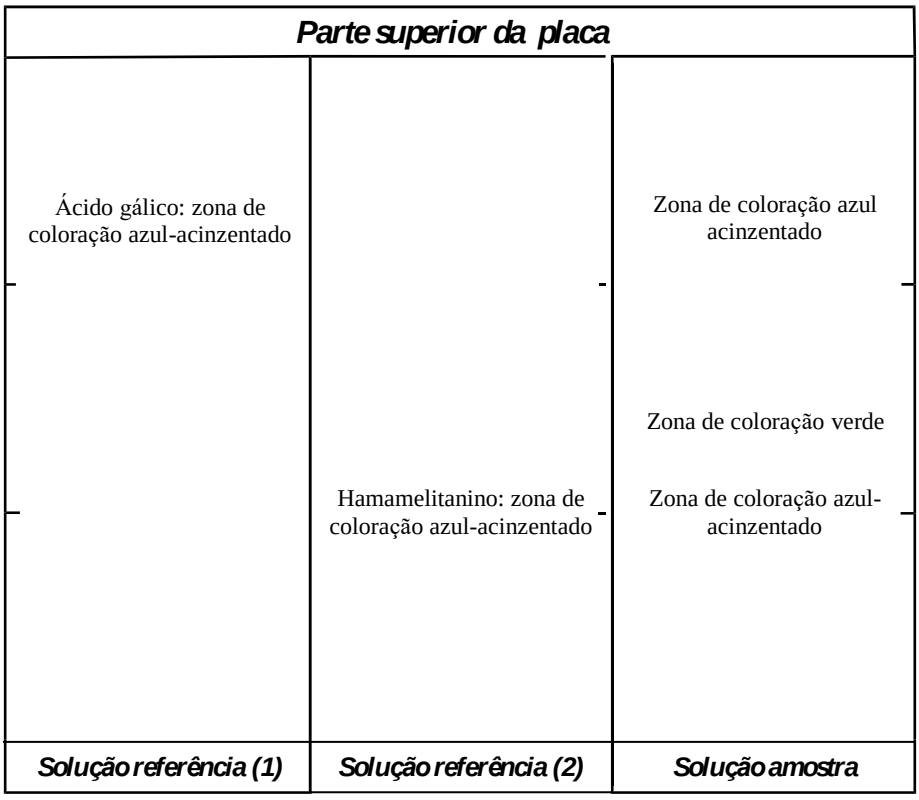
Solução amostra: pesar 1 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de álcool metílico e levar ao banho-maria durante 10 minutos. Filtrar e secar o extrato em banho-maria até resíduo. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder a análise cromatográfica.

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 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 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.



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.

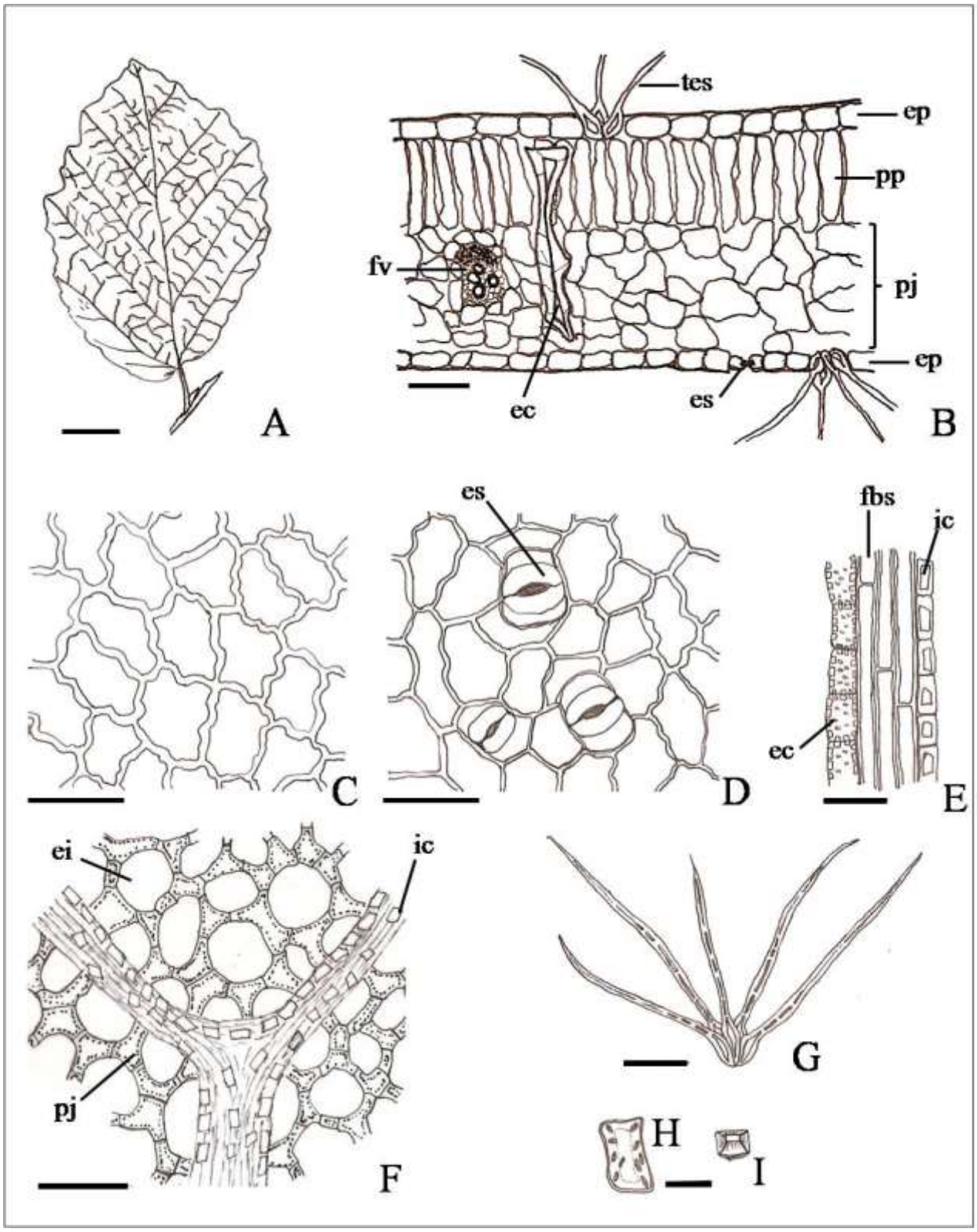


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hamamelis virginiana* L.

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 paliçádico (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 ($C_{21}H_{21}NO_6$, 383,39) e, no mínimo, 3,0% de berberina ($C_{20}H_{18}NO_4$, 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 GF_{254} (0,250 mm).

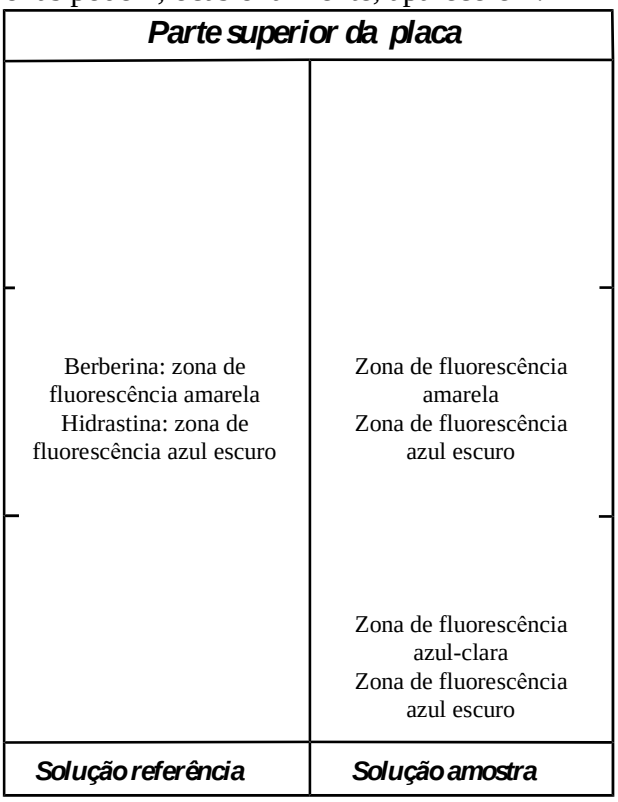
Fase móvel: acetato de etila, água e ácido fórmico anidro (80:10:10).

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 subnitrato 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.



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.

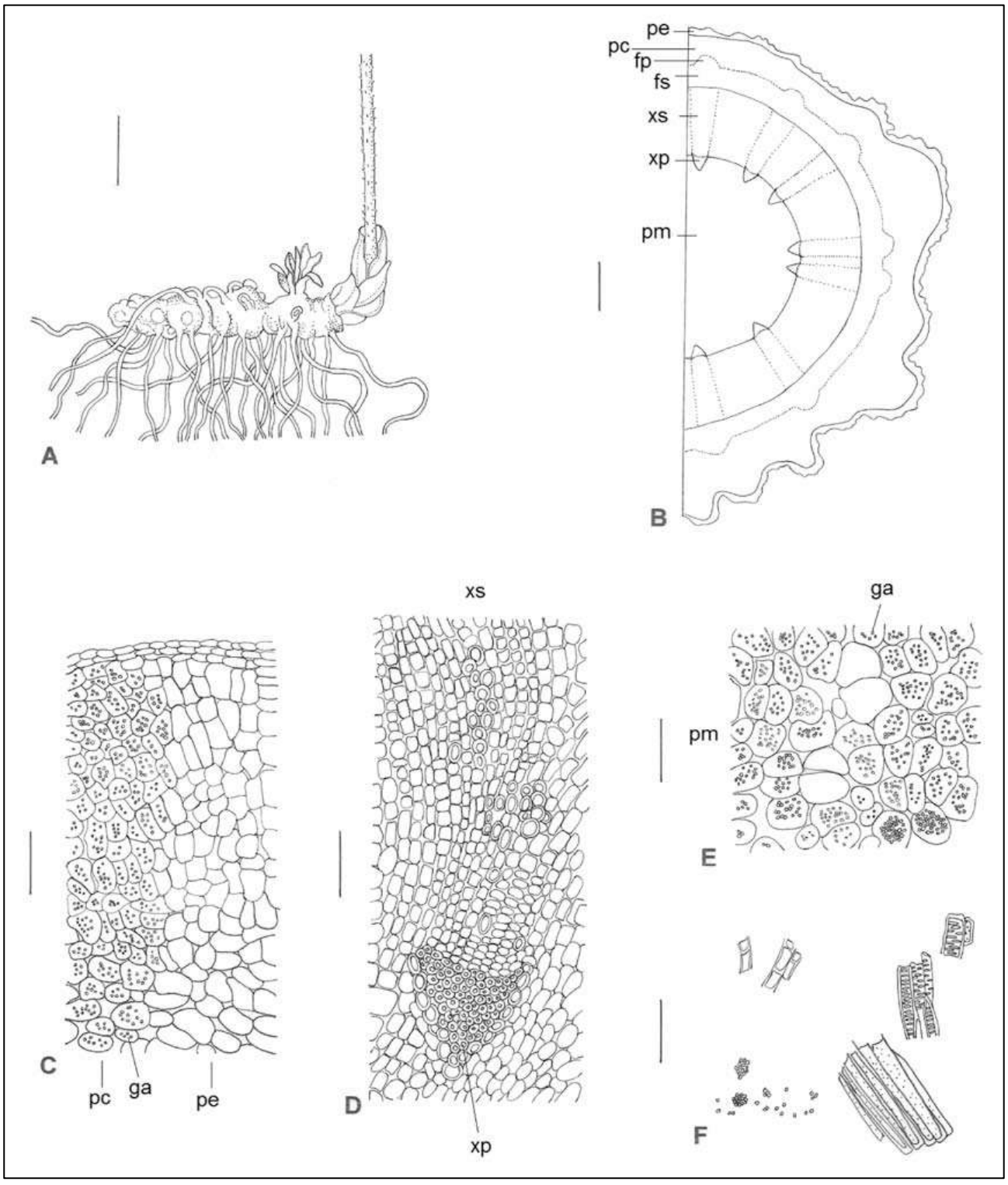


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hydrastis canadensis* L.**

As escalas correspondem em **A** a 100 mm, em **B** a **F** a 100 μm.

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 tetrangulares 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 bífido, 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 tranversal, 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 anticlinais 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 F_{254}, 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
	Zona de coloração azul
Mentol: zona de coloração azul a violeta intenso	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.

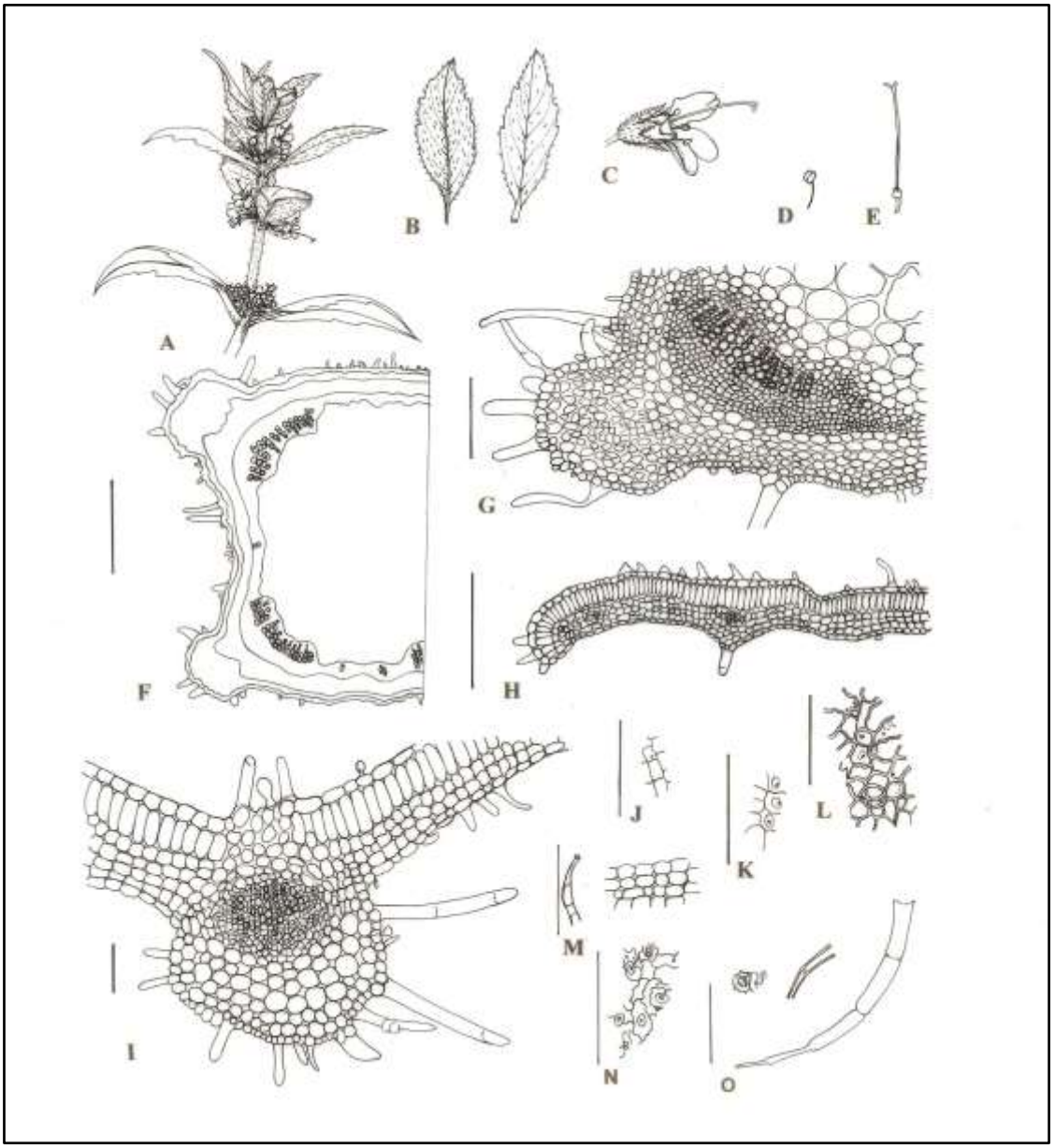


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Mentha arvensis* L.

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 seção 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 diacíticos 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 serreada, 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 anticlinais 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 GF_{254} (0,250 mm).

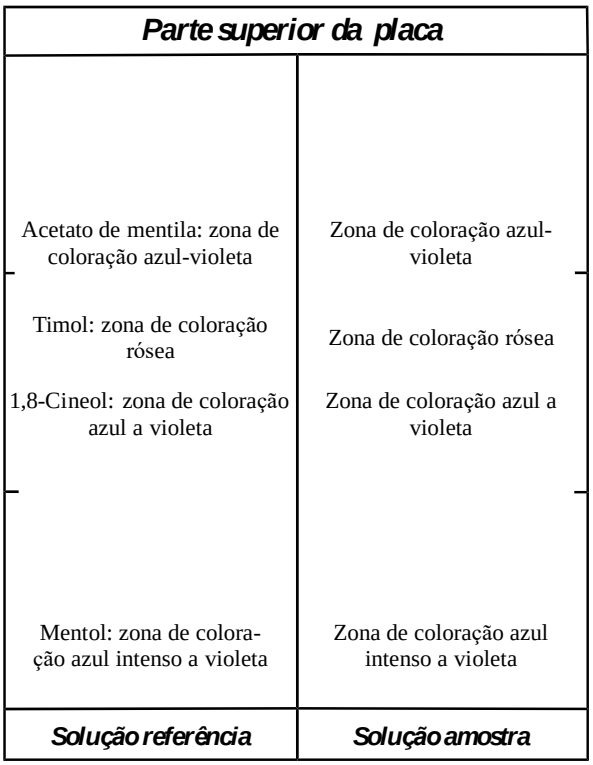
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

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 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. 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.



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.

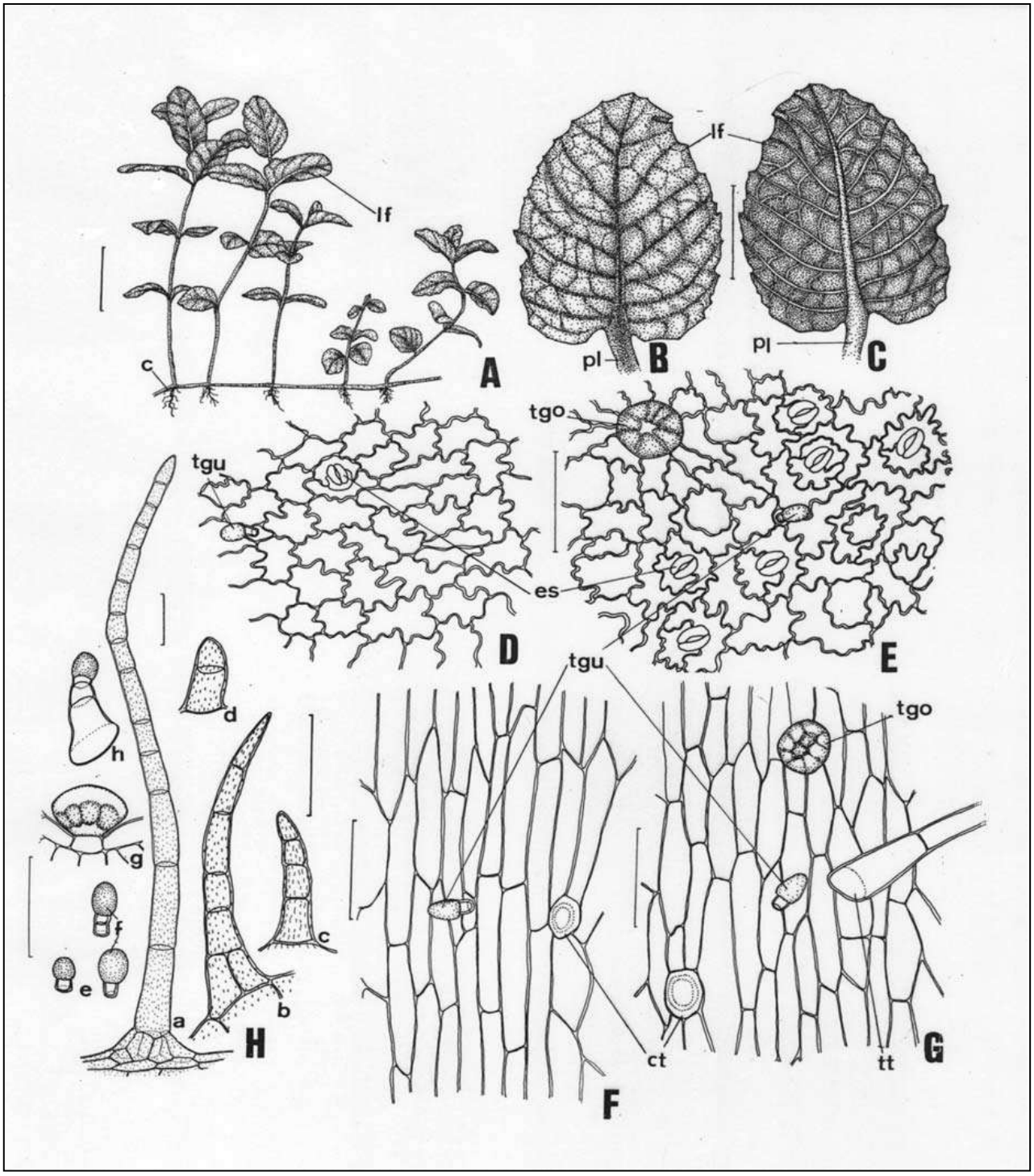


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Mentha* × *piperita* L.

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).

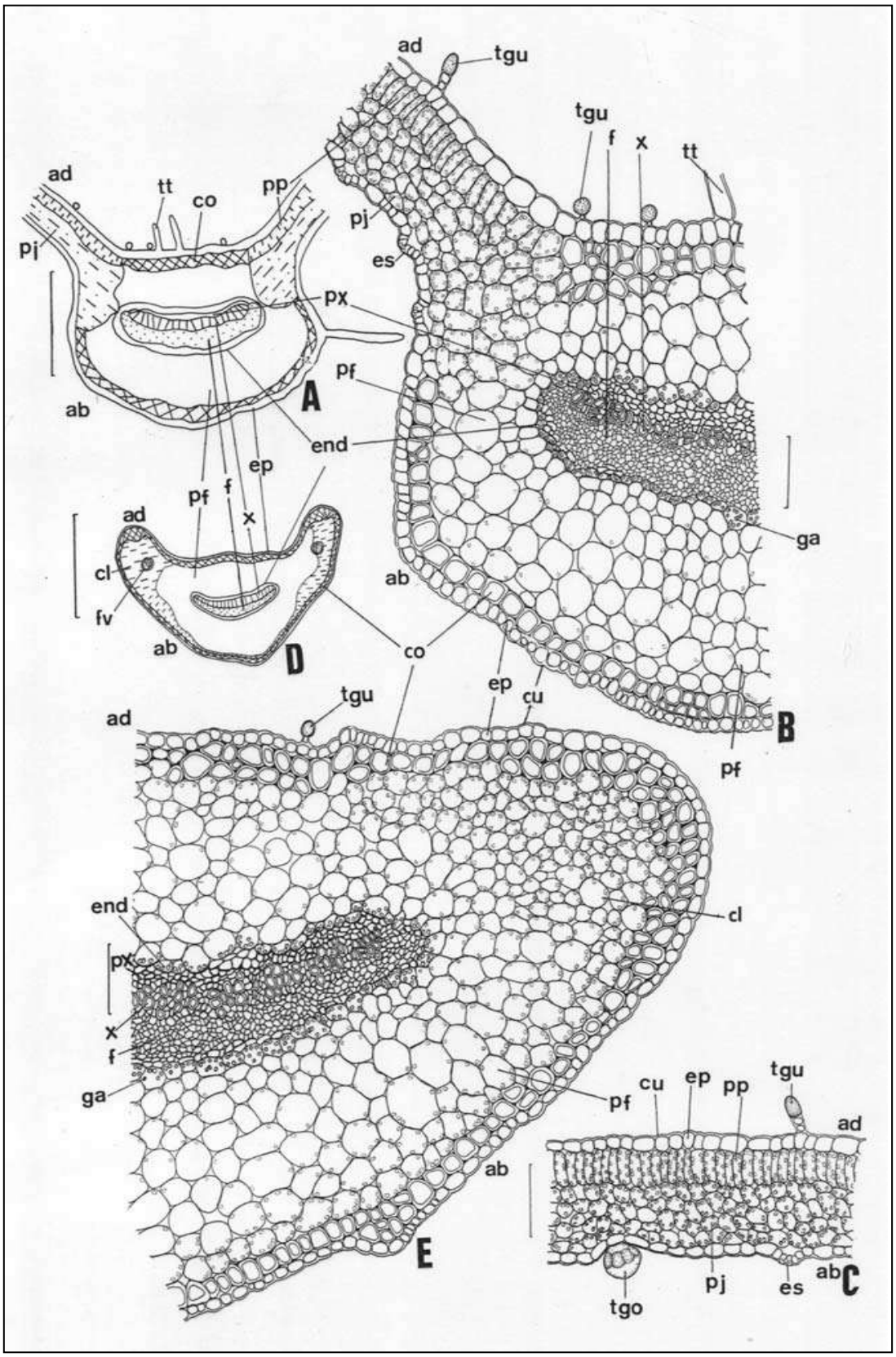


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Mentha × piperita* L.

As escalas correspondem em **A** a 400 μm; em **B**, **C** e **E** a 100μm; 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 ($C_{12}H_{22}O_{11}$, 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 F_{254}, com espessura de 250 µm.

Fase móvel: acetato de etila, água, ácido fórmico e ácido acético (100:27:11:11).

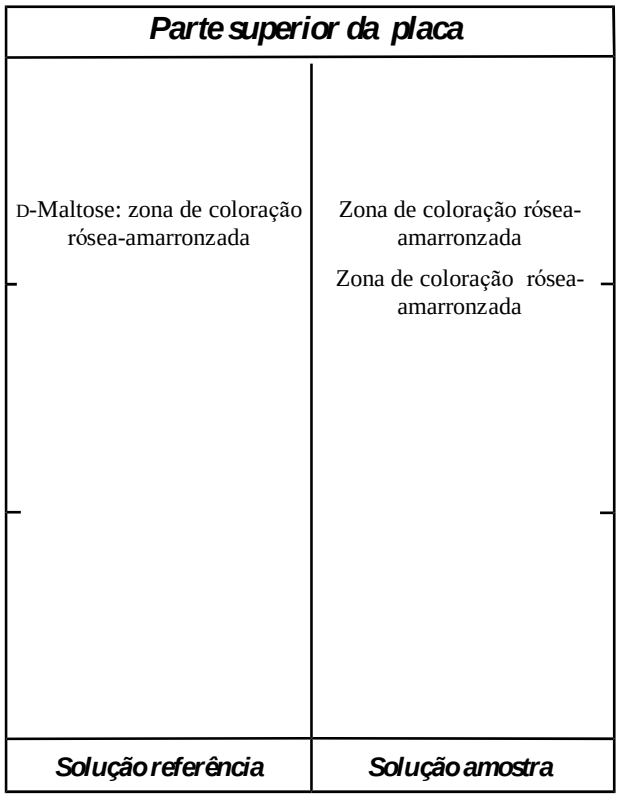
Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 2 g da droga vegetal pulverizada, acrescentar 20 mL da mistura álcool metílico e água (1:1) e aquecer durante 10 minutos a temperatura de 100 ºC. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão.

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 ºGL, 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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com a *Revelador*, deixar secar ao ar e aquecer a 100 ºC 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.



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 ºC 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 ºC 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 ºC 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:

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

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.

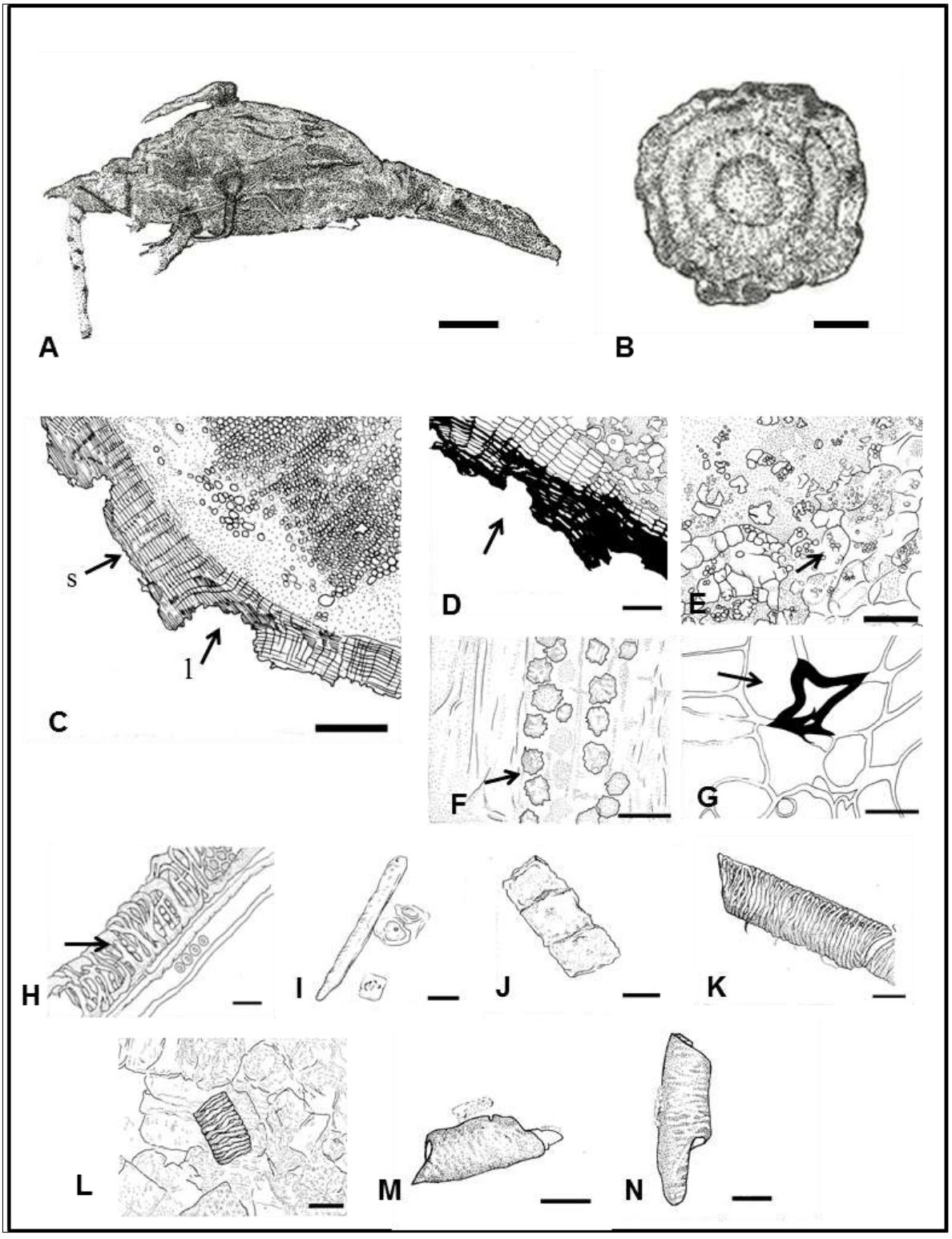


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Operculina macrocarpa* (L.) Urb.

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 ($C_7H_6O_5$, 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 F_{254}, com espessura de 250 µm.

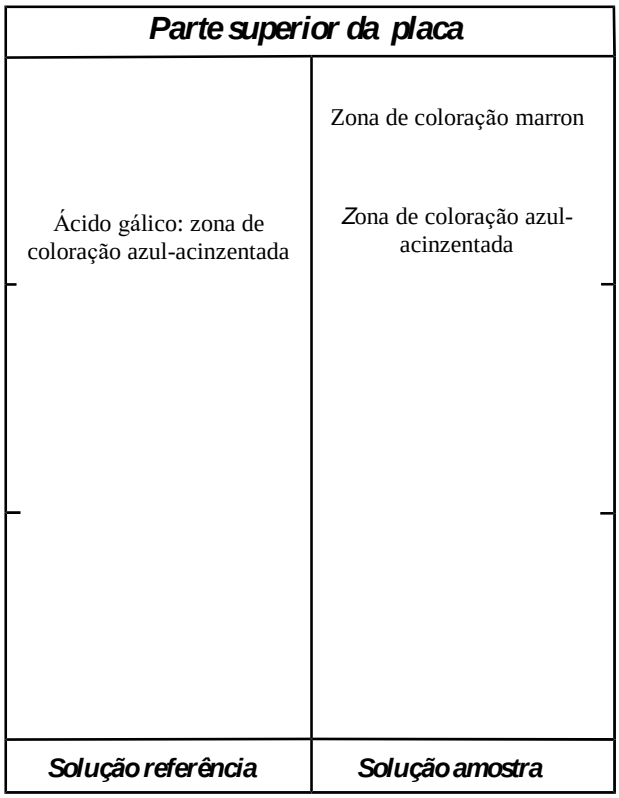
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com 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.



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);

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 purezada 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a}{\mathrm{A}_r \times m} \times 200 \times 100$$

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.

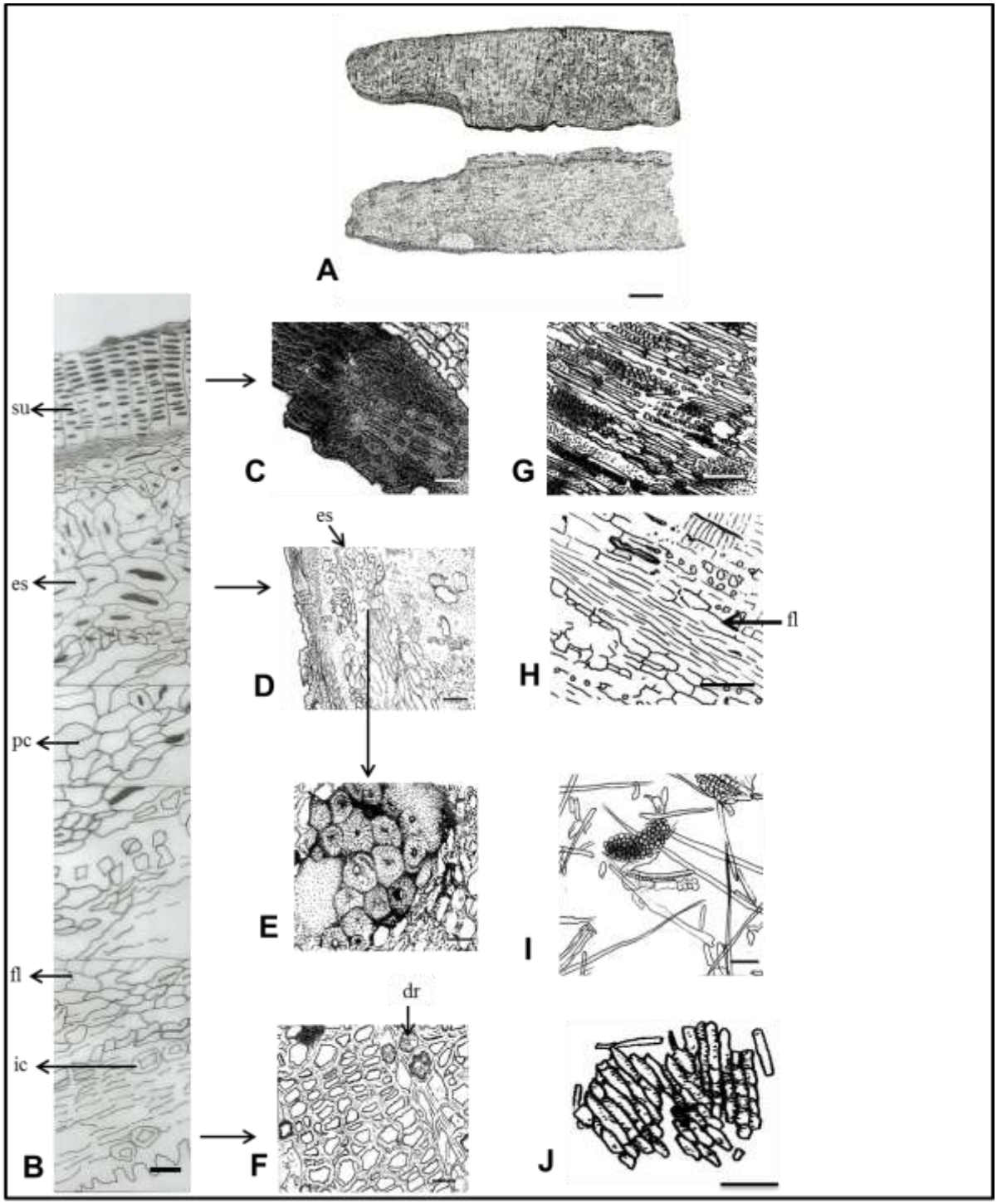


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P.Queiroz

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 ($C_7H_6O_5$, 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 libriformes; 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 F_{254}, com espessura de 250 µm.

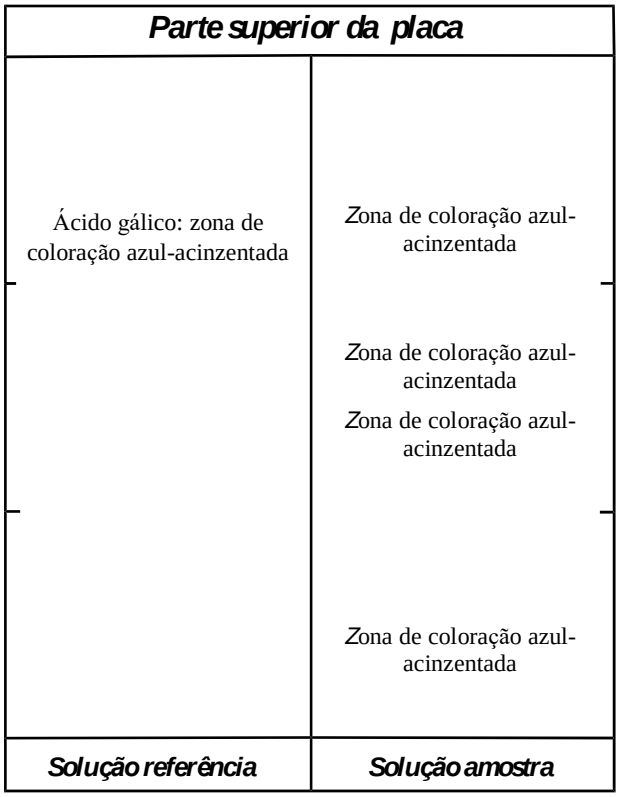
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com 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.



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:

$$\mathrm{TT} = \frac{(\mathrm{A}_1 - \mathrm{A}_2) \times m_2 \times 62{,}5}{\mathrm{A}_3 \times m_1}$$

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.

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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a}{\mathrm{A}_r \times m} \times 250 \times 100$$

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.

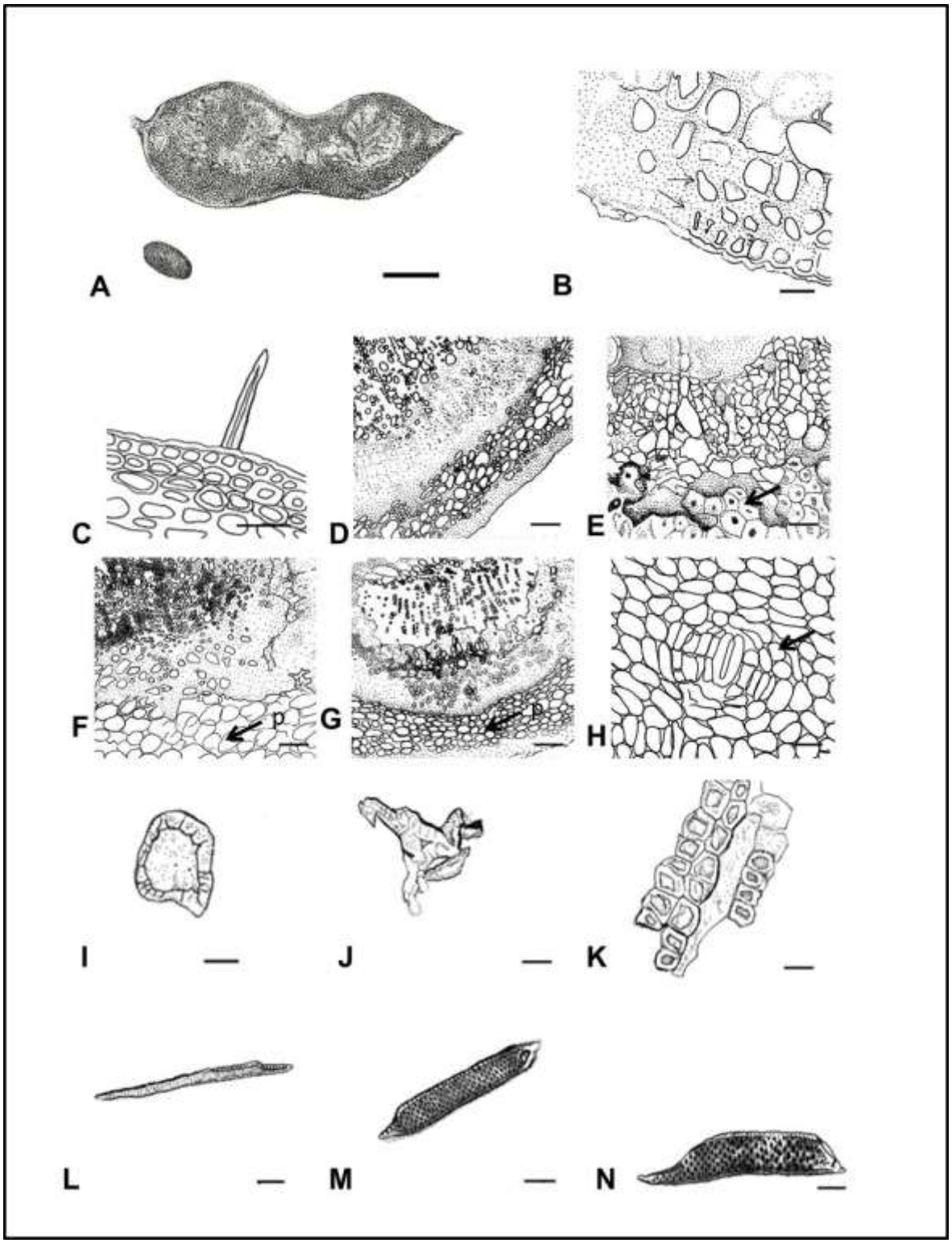


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó do fruto em *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz

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** – macroesclereíde. **J** – esclereíde ramificado. **K** – células parenquimáticas contendo cristais prismáticos. **L** – fibras esclerenquimáticas libriformes. **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 ovoides, 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 braciformes, 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 GF_{254} (0,250 mm).

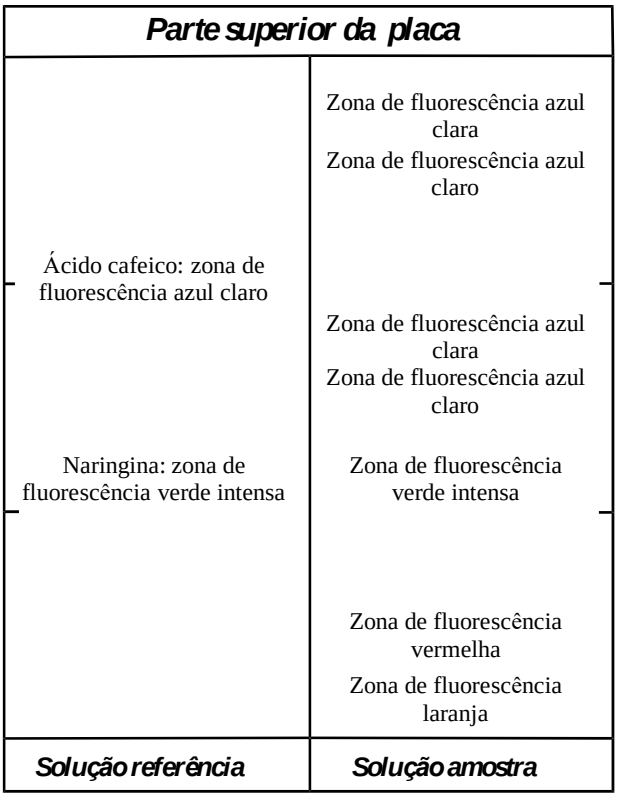
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água, (75:15:10).

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.



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.

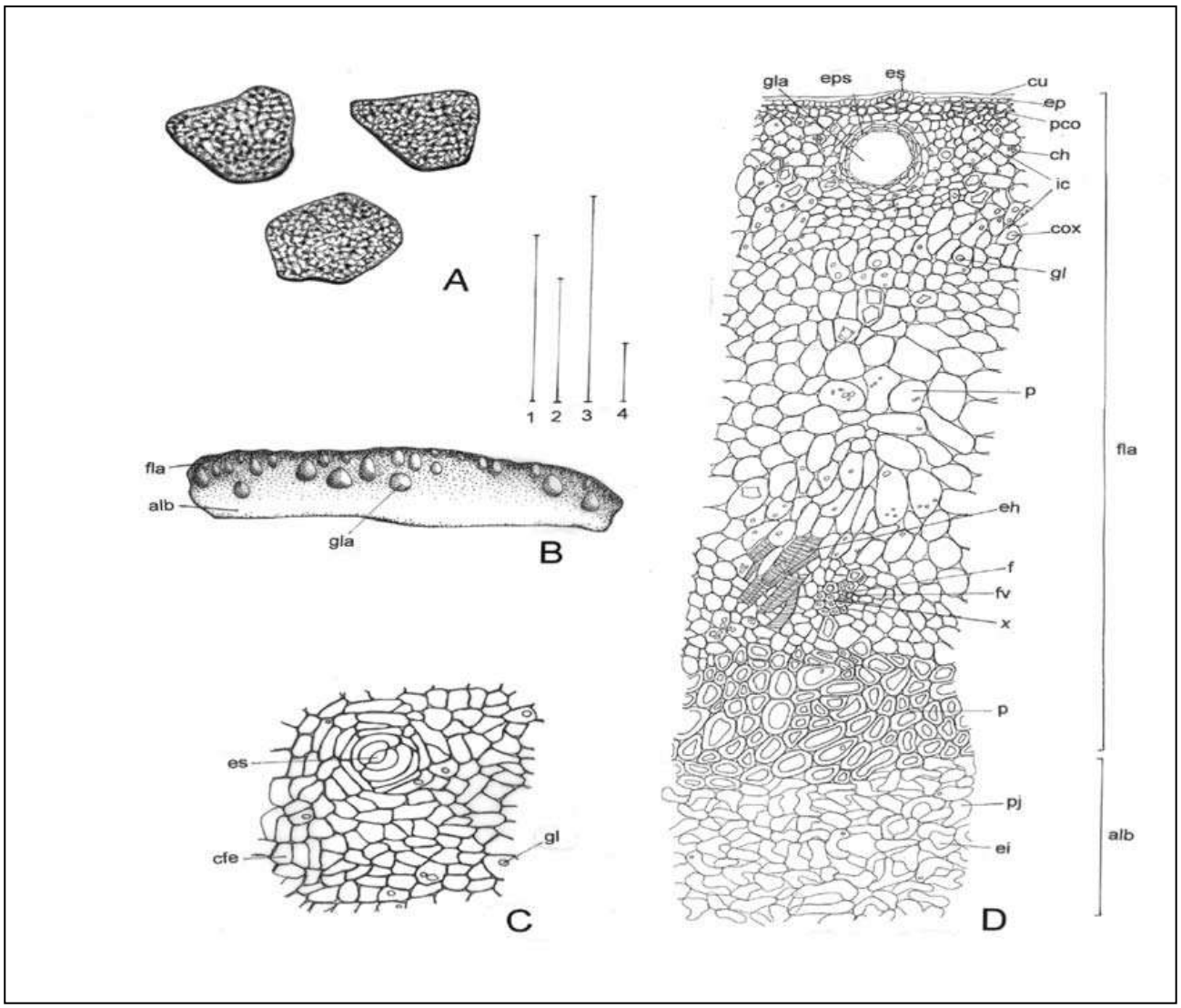


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*

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

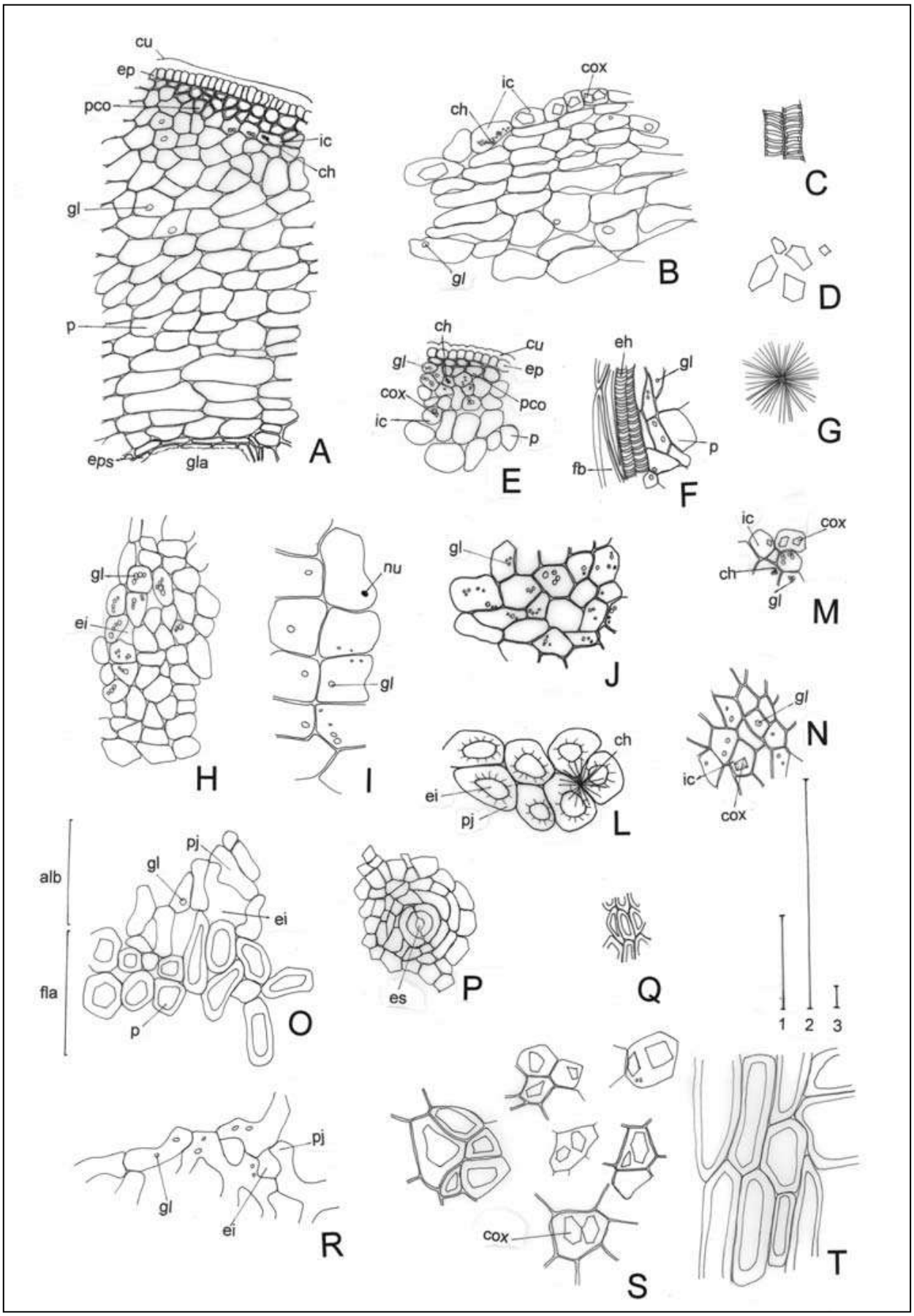


Figura 2 – **Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium***

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 ($C_{15}H_{10}O_7$, 302,24), e, no mínimo, 0,6% de 3-*O*-metilquercetina ($C_{16}H_{12}O_7$, 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 invólucro 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, bífido, 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, monospérmico; 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; estiletes 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 µg/mL de quercetina em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução com concentração de 100 µg/mL de luteolina em álcool metílico.

Solução referência (3): preparar uma solução com concentração de 100 µg/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.

Parte superior da placa	
Luteolina: zona de fluorescência laranja	*Z*ona de fluorescência laranja
3-*O*-Metilquercetina: zona de fluorescência amarela	*Z*ona de fluorescência amarela
Quercetina: zona de fluorescência laranja	*Z*ona de fluorescência laranja
Solução referência	***Solução amostra***

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

Fase estacionária: sílica gel GF_{254}.

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 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. 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.

Parte superior da placa	
	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
Solução referência	***Solução amostra***

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:

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

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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TQ} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 25 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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.

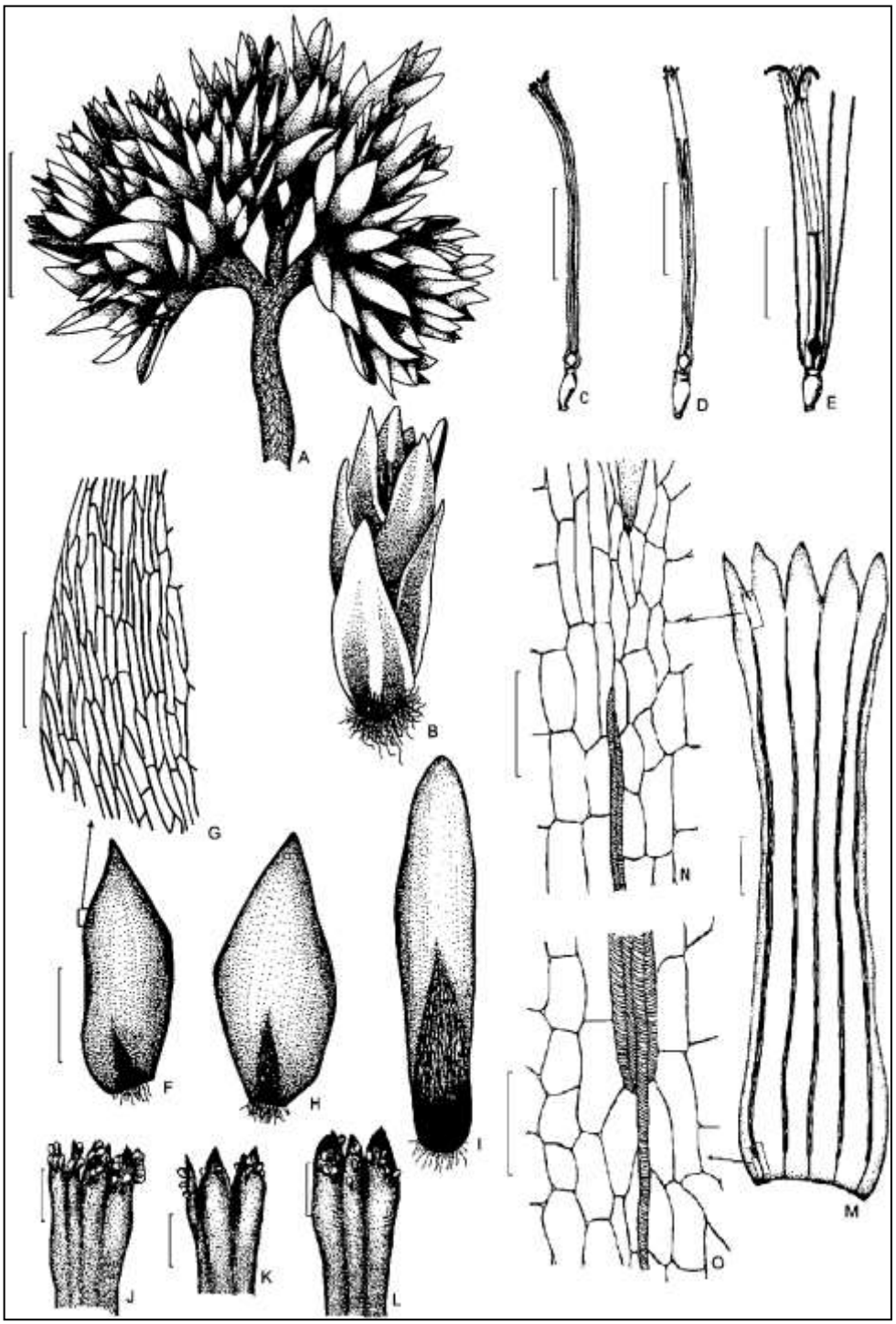


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

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 papus 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**.

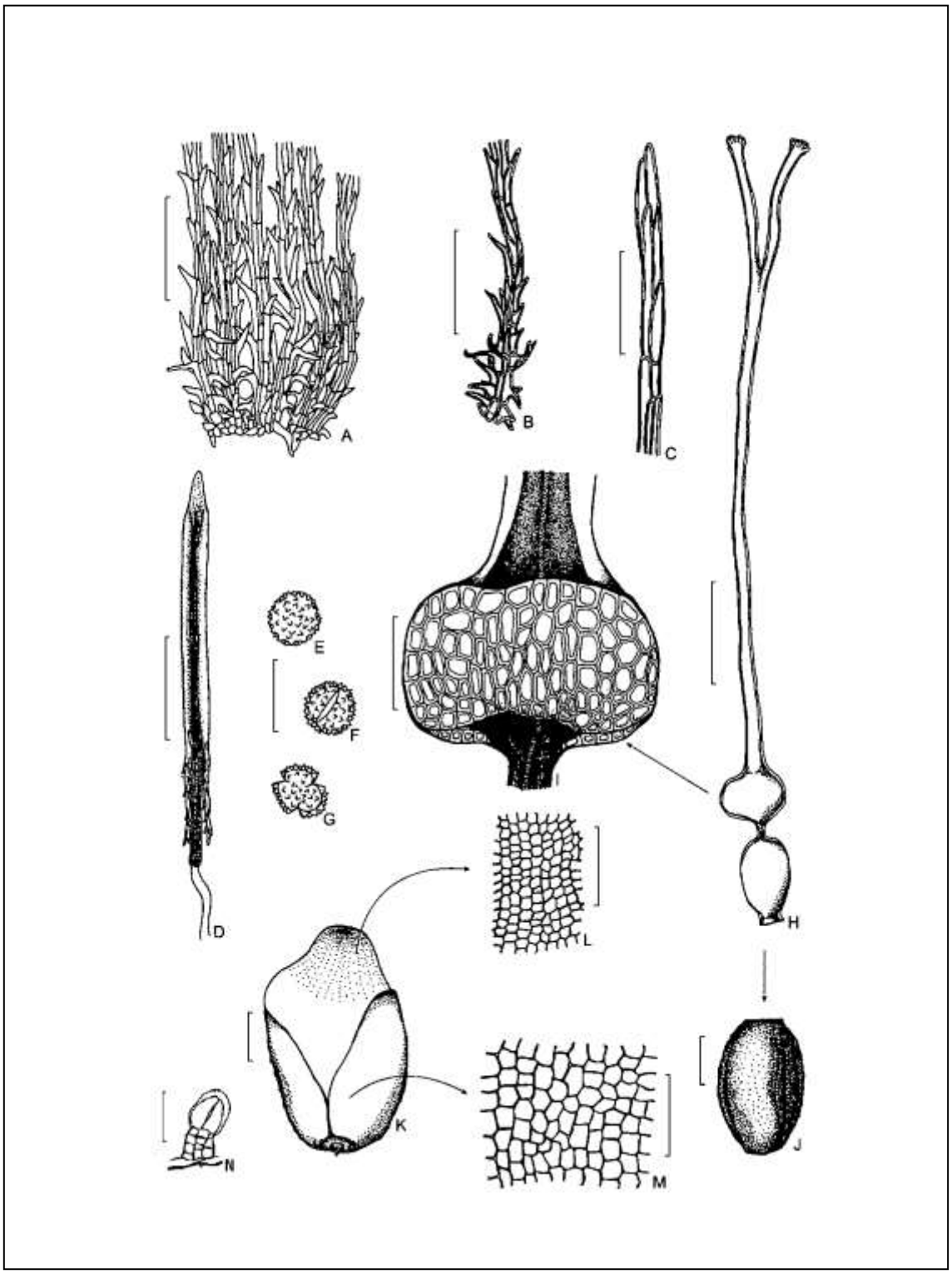


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos do pó em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

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, estiletes 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 F_{254}, com espessura de 250 µm.

Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético (60:30:15).

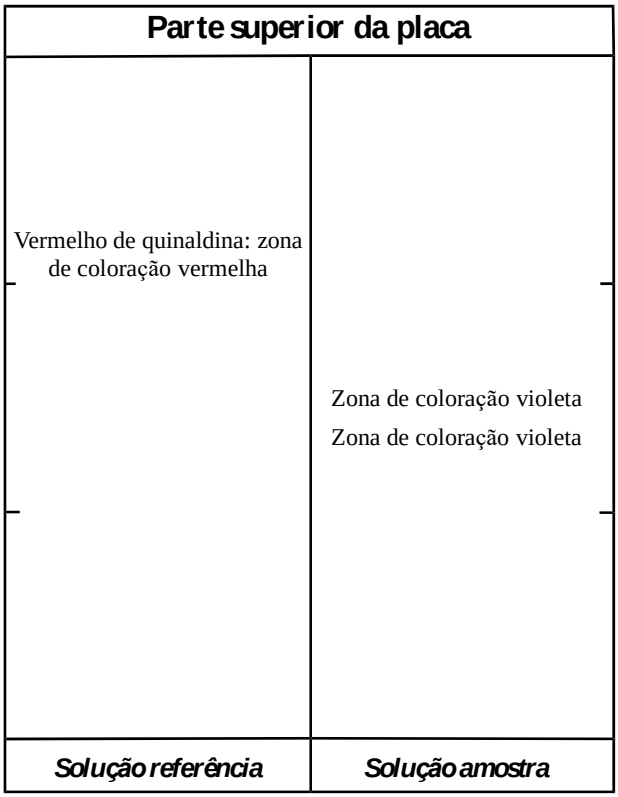
Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de álcool etílico a 60% (v/v) e agitar mecanicamente durante 15 minutos. Filtrar e secar, à vácuo, o extrato até resíduo, em temperatura

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 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. 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.



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.

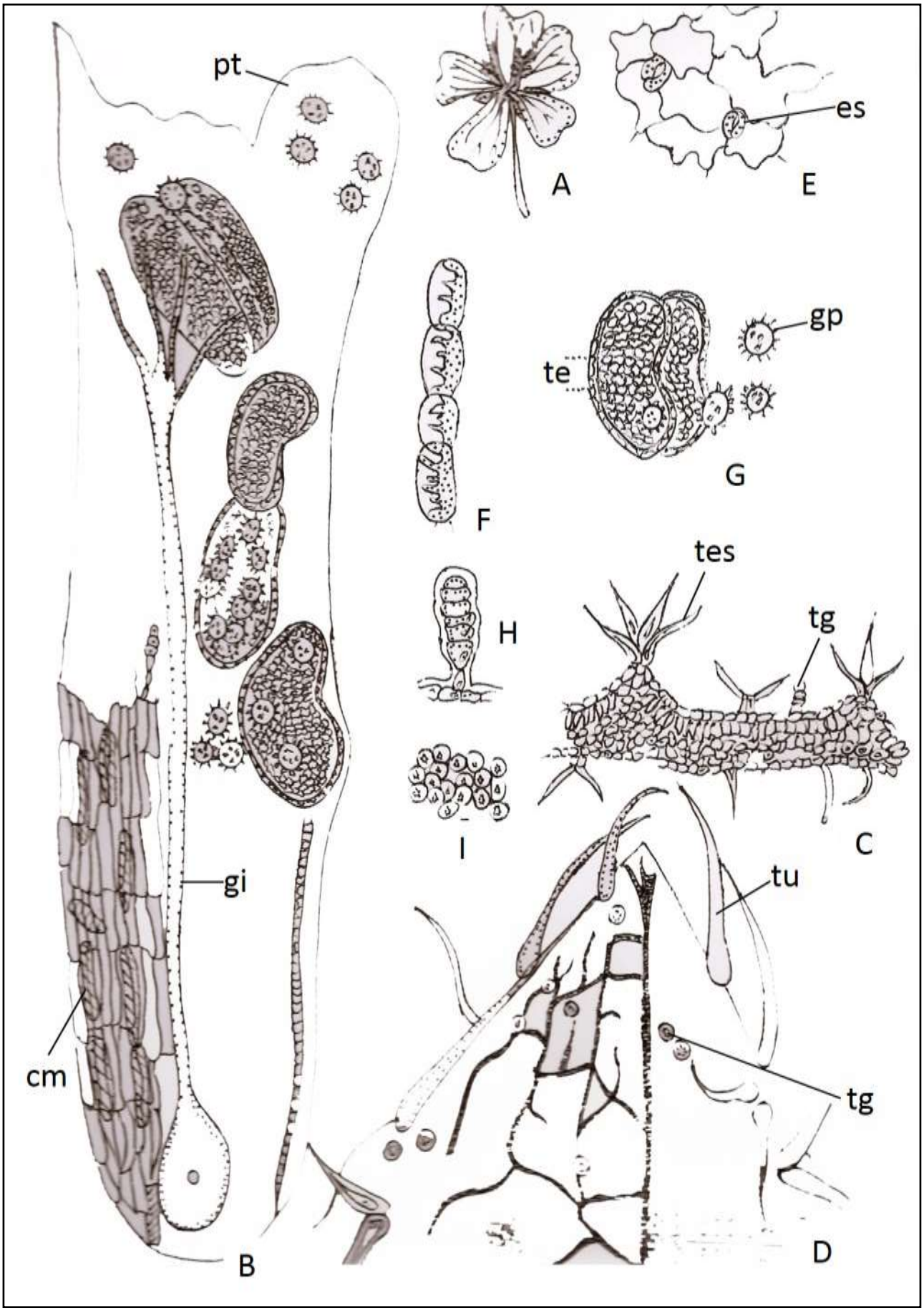


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Malva sylvestris* L.

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 estiletes 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 ($C_{15}H_{10}O_5$, 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 hipoestomáticas 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 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. 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.

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência verde
Isovitexina: zona de fluorescência amarelo-esverdeado Isoorientina: zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência amarelo esverdeado Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência verde Zona de fluorescência verde Zona de fluorescência verde-claro 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	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***

(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.

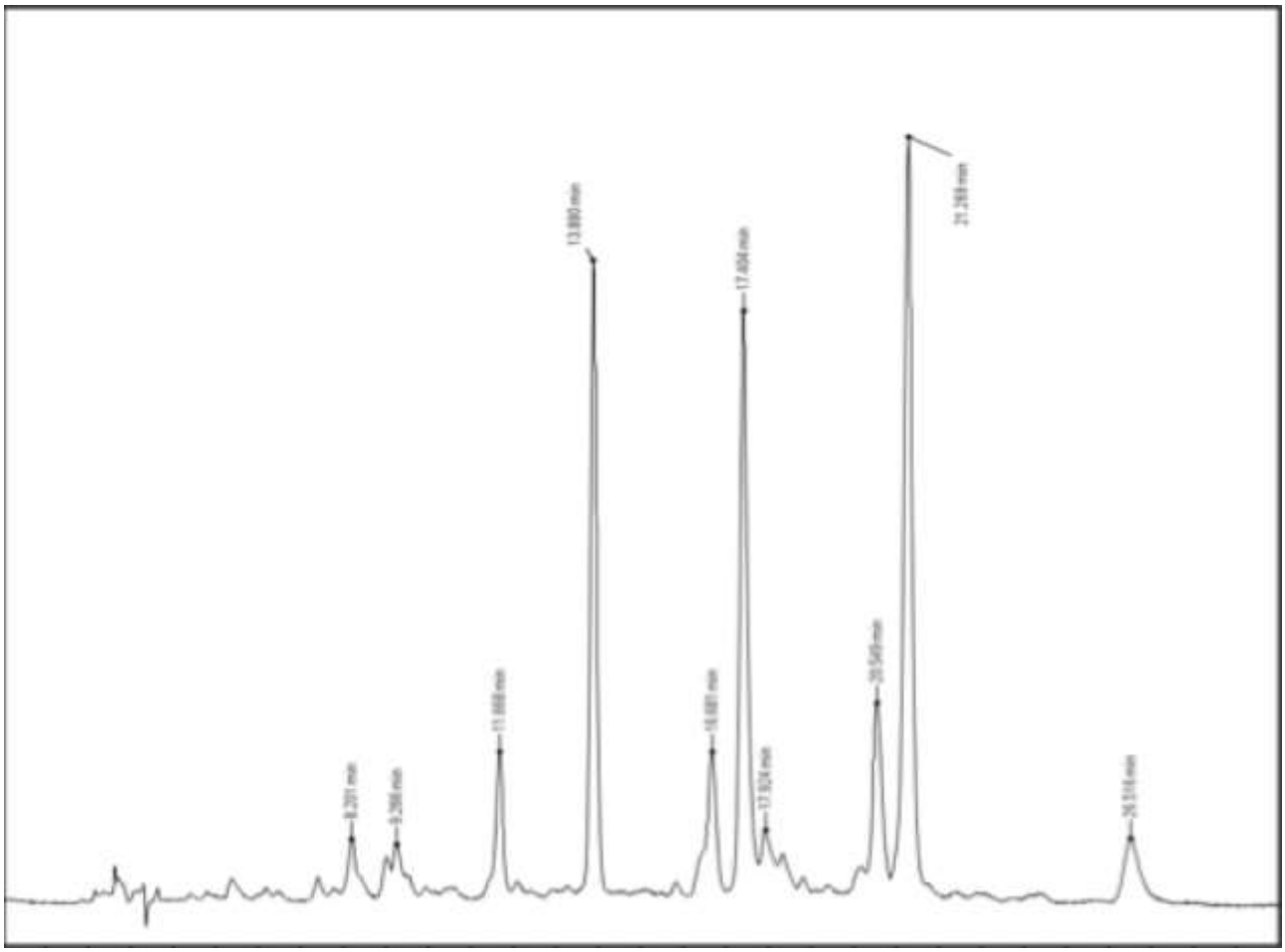


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo do perfil da *solução amostra* de *Passiflora edulis* Sims.

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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 625 \times 100}{m \times 365{,}3}$$

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.

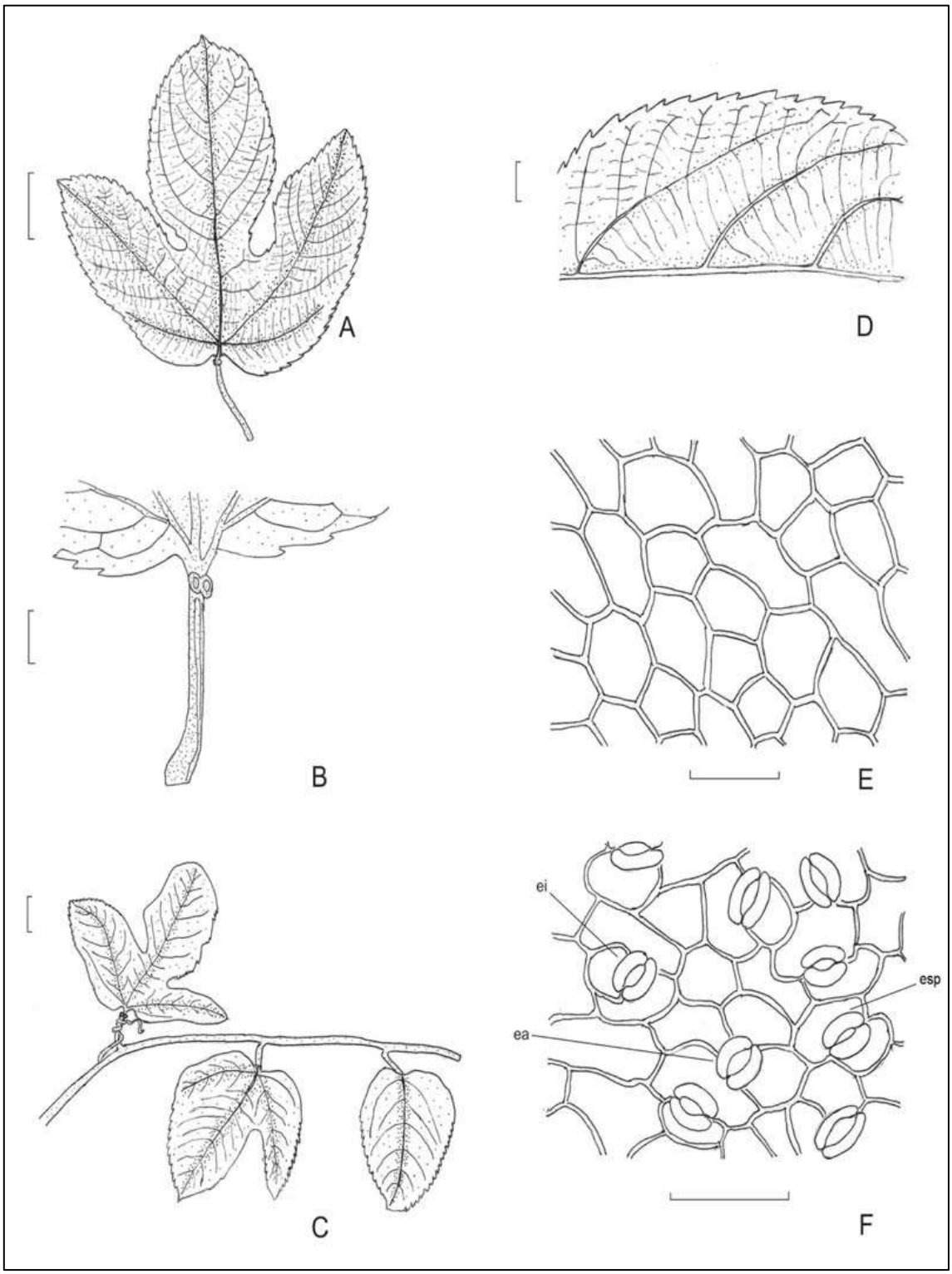


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Passiflora edulis* Sims

_____

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

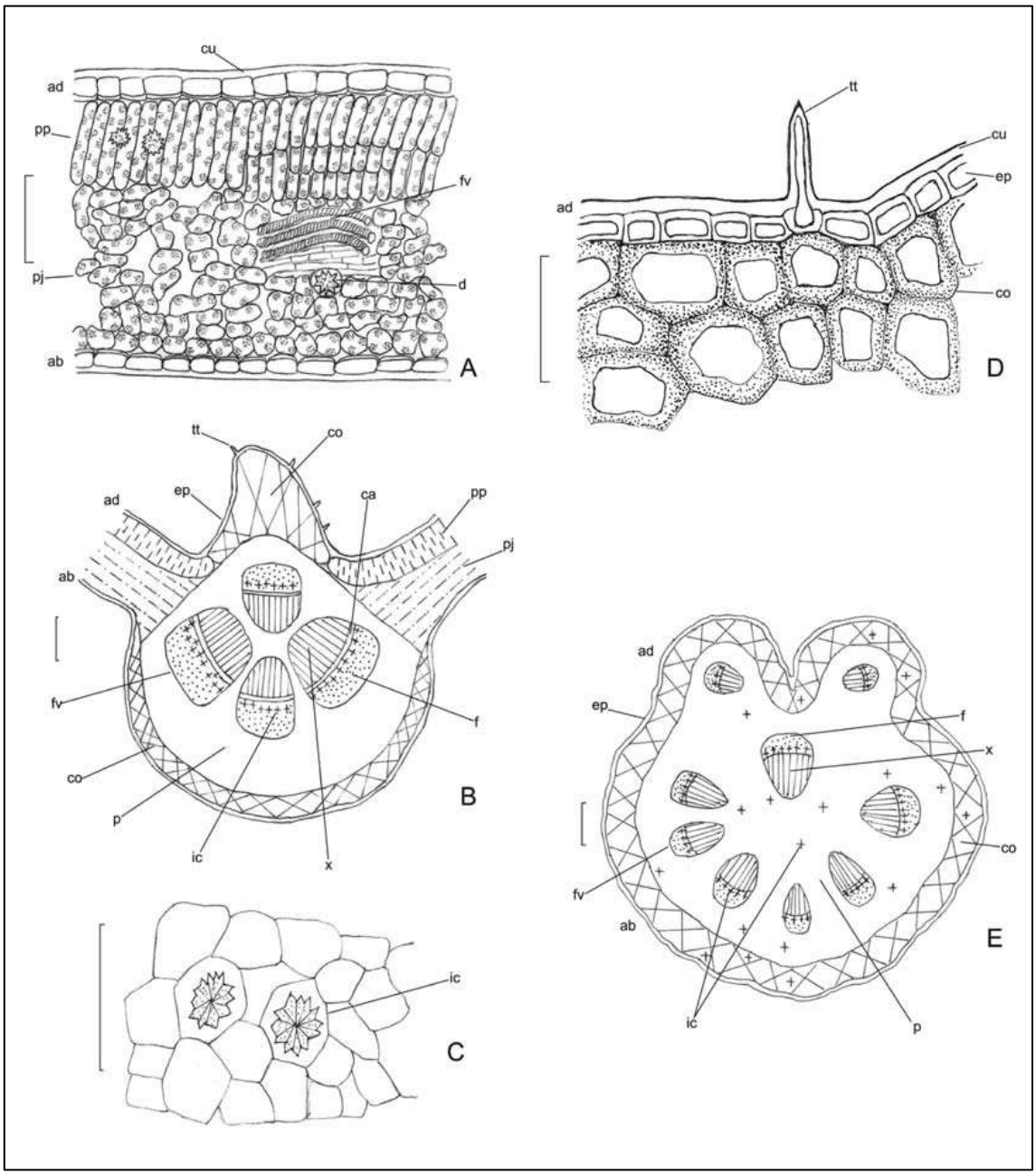


Figura 3 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Passiflora edulis* Sims

_____

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 ($C_{15}H_{10}O_5$, 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 hipoestomáticas 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 paliçádico 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.

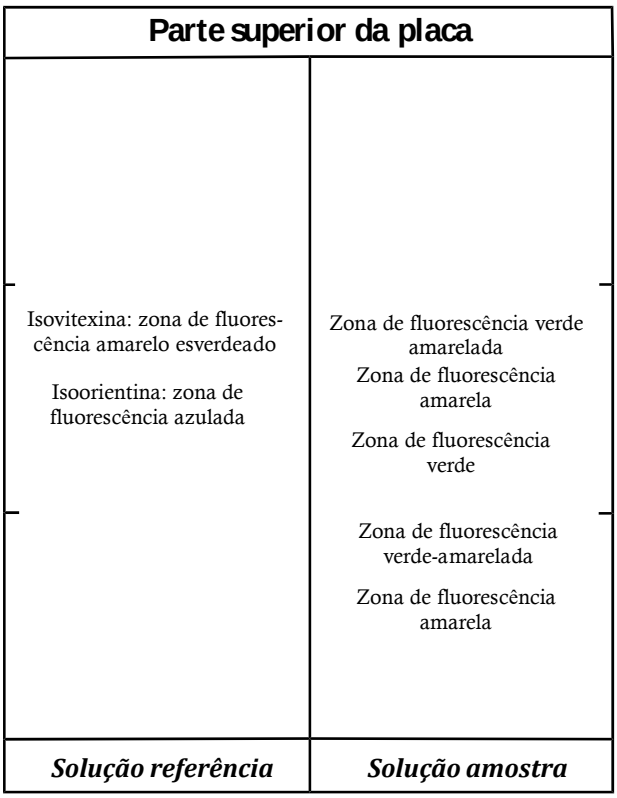
Fase móvel: acetato de etila, acetona, ácido acético e água (6:2:1:1).

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.



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.

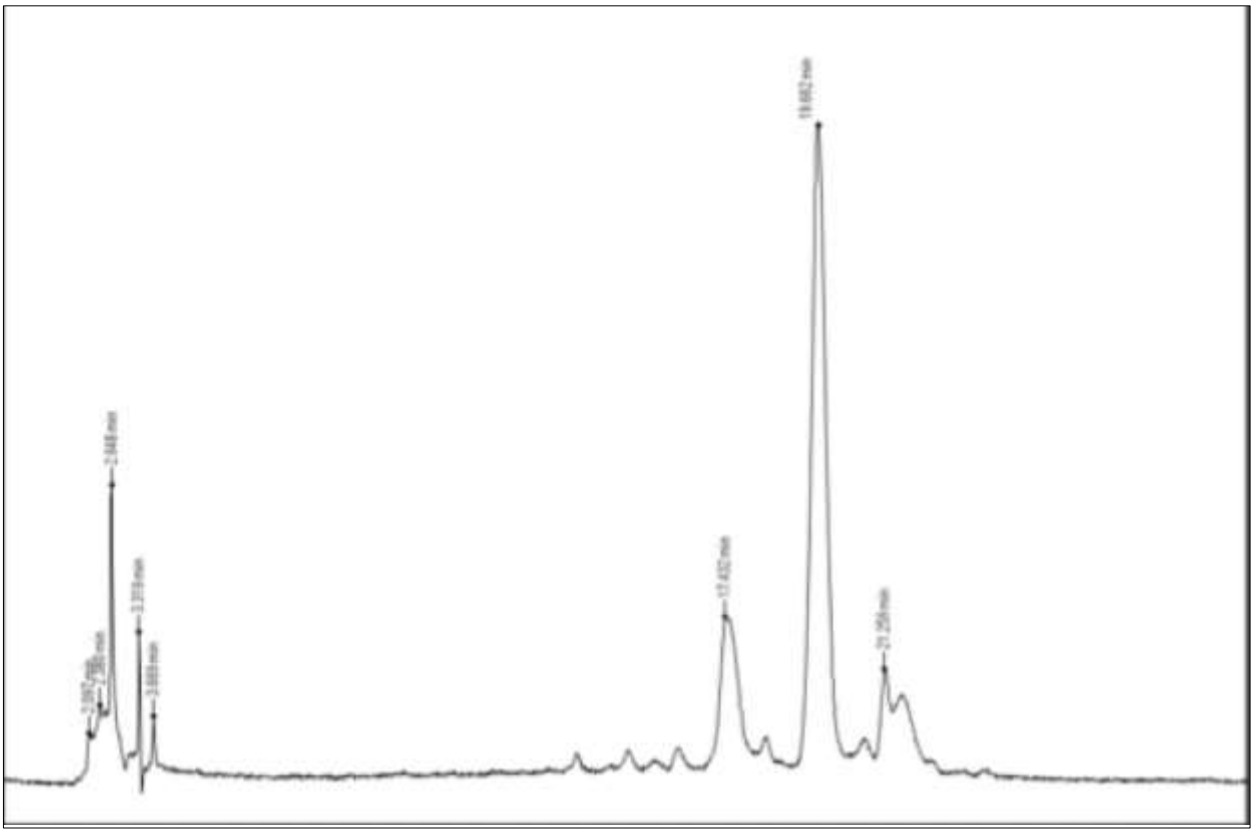


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo do perfil da *solução amostra* de *Passiflora alata* Curtis.

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:

$$\mathrm{IE} = \frac{1000}{\mathrm{P} \times \mathrm{V}}$$

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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 625 \times 100}{m \times 365{,}3}$$

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.

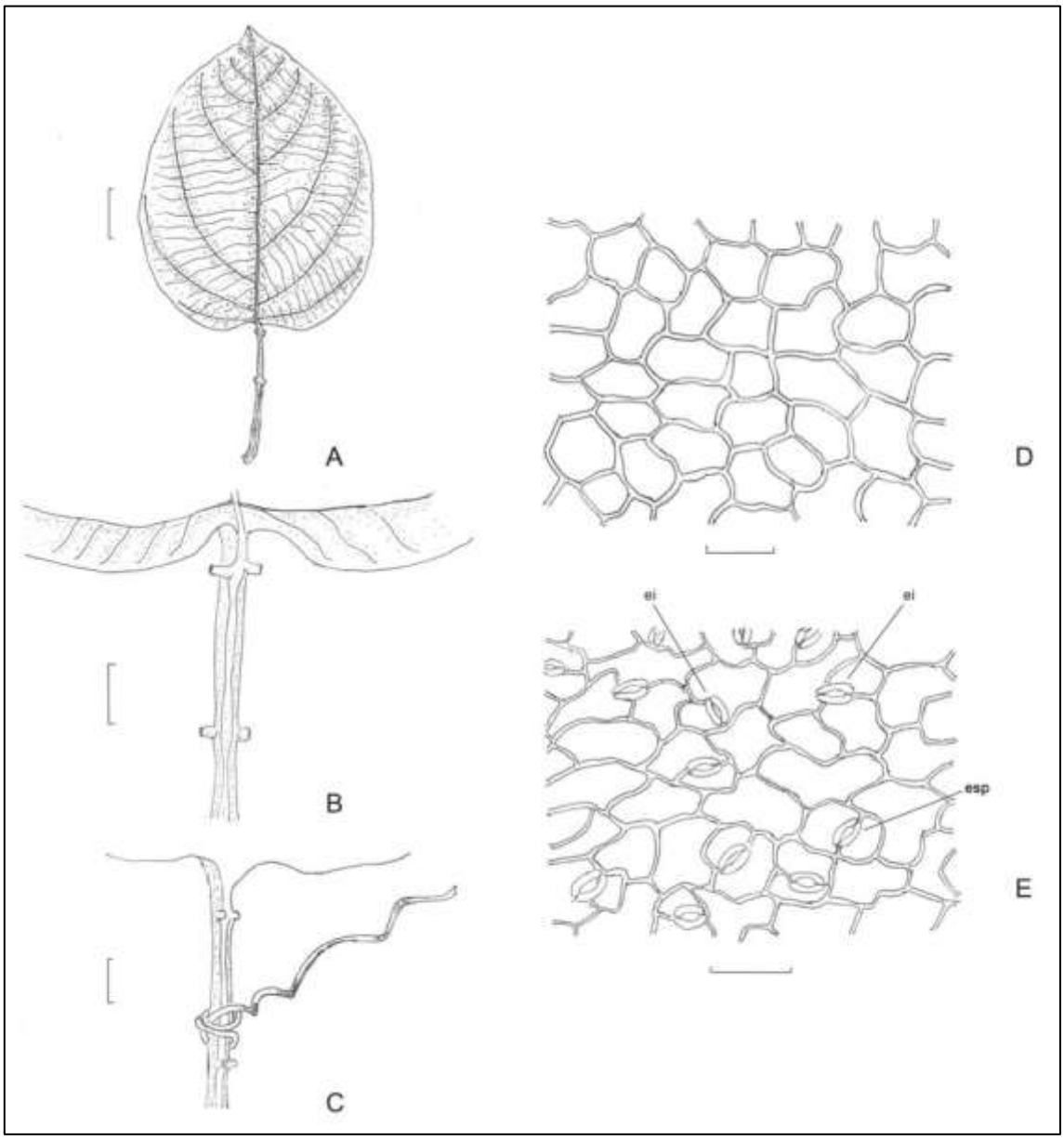


Figura 2 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Passiflora alata* Curtis

_____

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 peninérvea, 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).

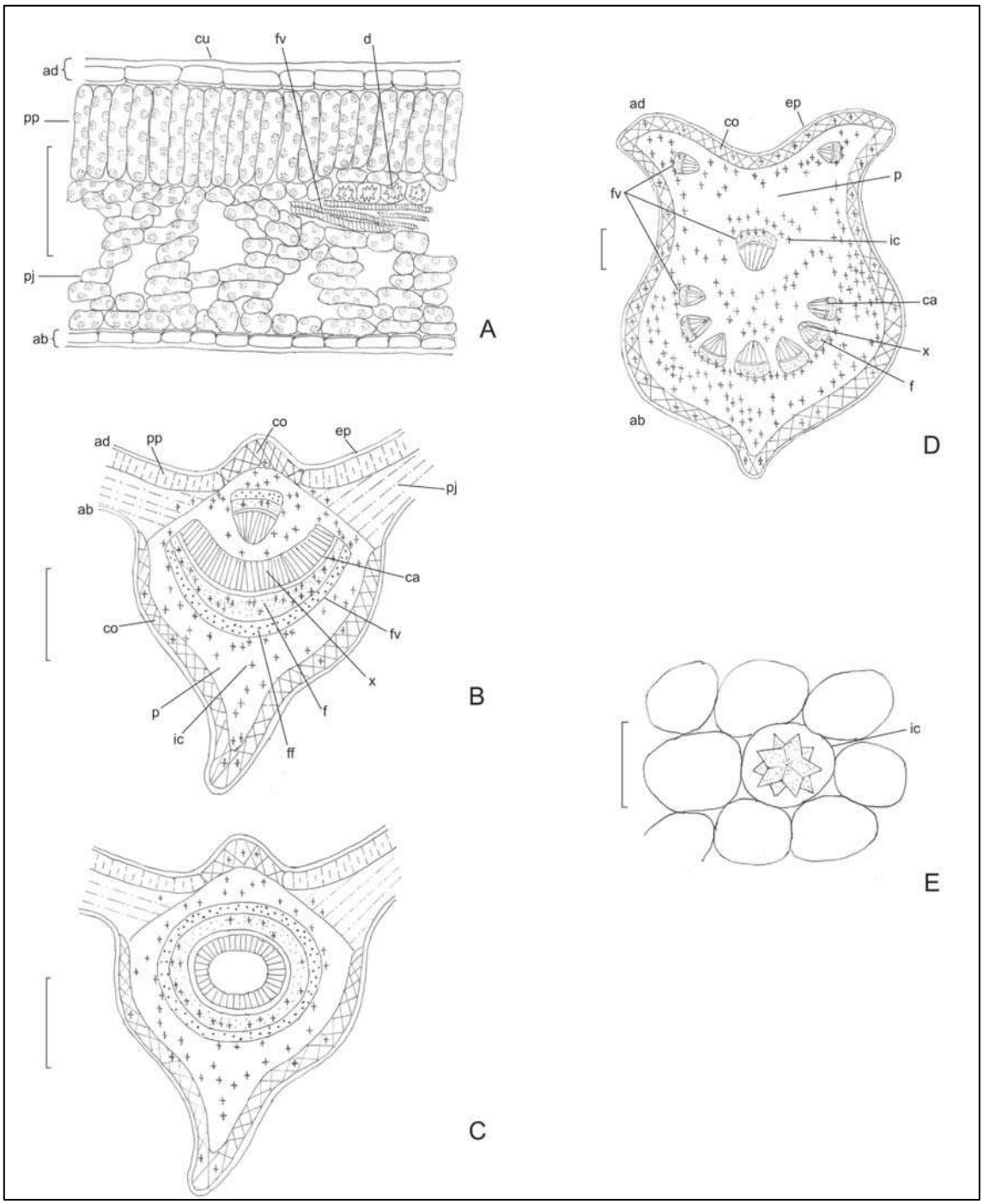


Figura 3 - Aspectos microscópicos em *Passiflora alata* Curtis

_____

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 ($C_{17}H_{23}NO_3$; 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 subesféricos, 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 GF_{254}.

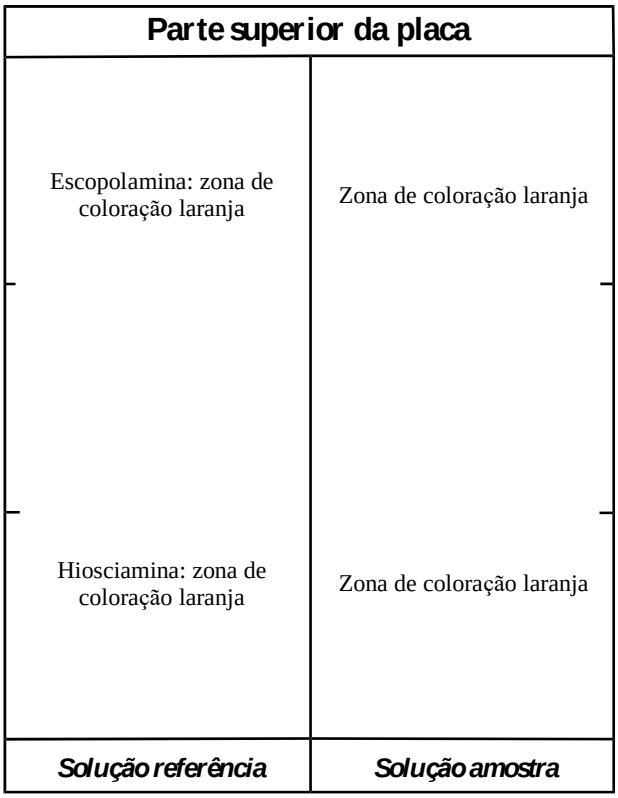
Fase móvel: acetona, água e solução concentrada de amônia (90:7:3).

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 subnitrato 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.



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:

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

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, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

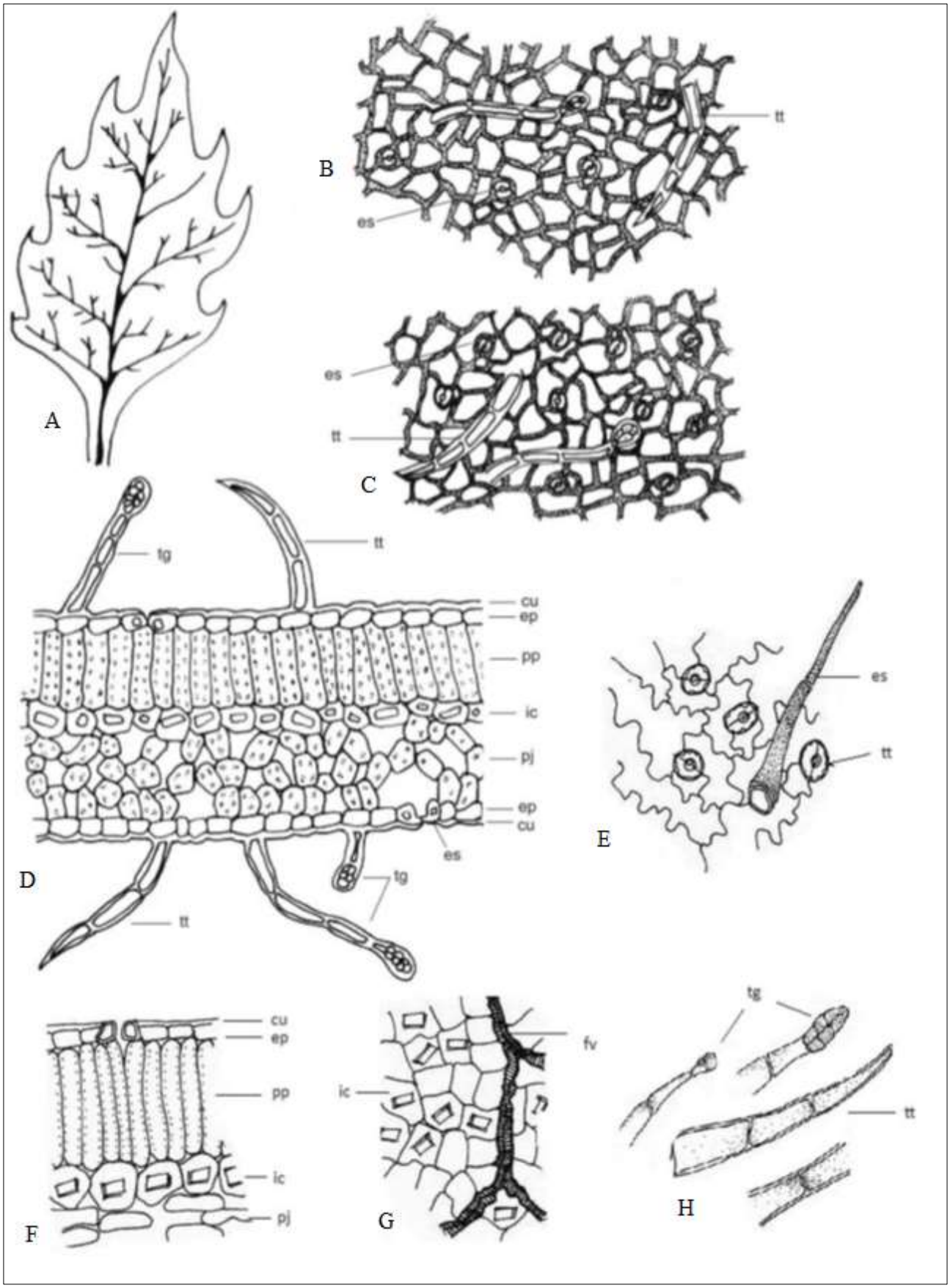


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Hyoscyamus* niger L.

_____

As escalas correspondem em **A** a 5 mm, em **B-D** e **H** a 20 µm, em **E-G** a 30 µm.

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 ($C_{18}H_{16}O_8$, 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 anticlinais 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 anticlinais 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 monospérmicos; 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 GF_{254} (0,250 mm).

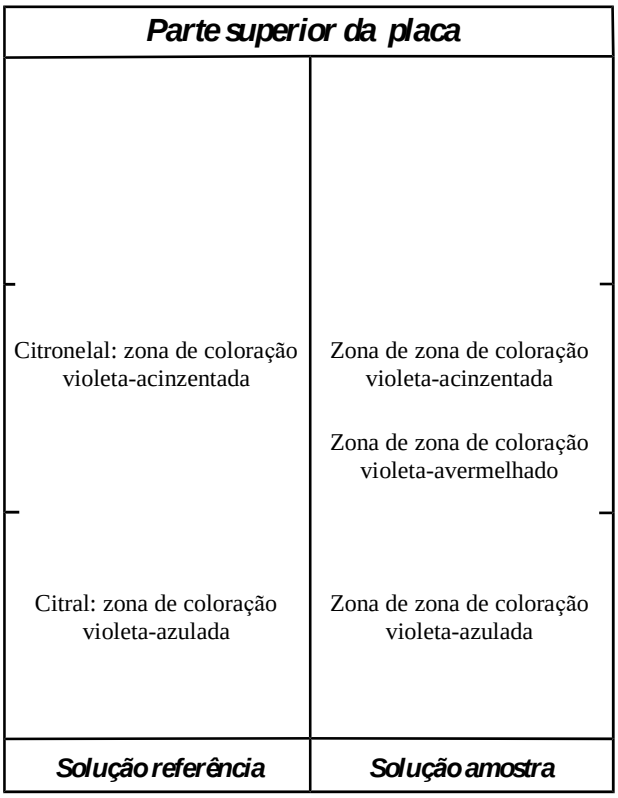
Fase móvel: hexano e acetato de etila (90:10).

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.



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 (ºC)
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:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr}_x - \mathrm{tr}_z)}{(\mathrm{tr}_{z+1} - \mathrm{tr}_z)}$$

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.

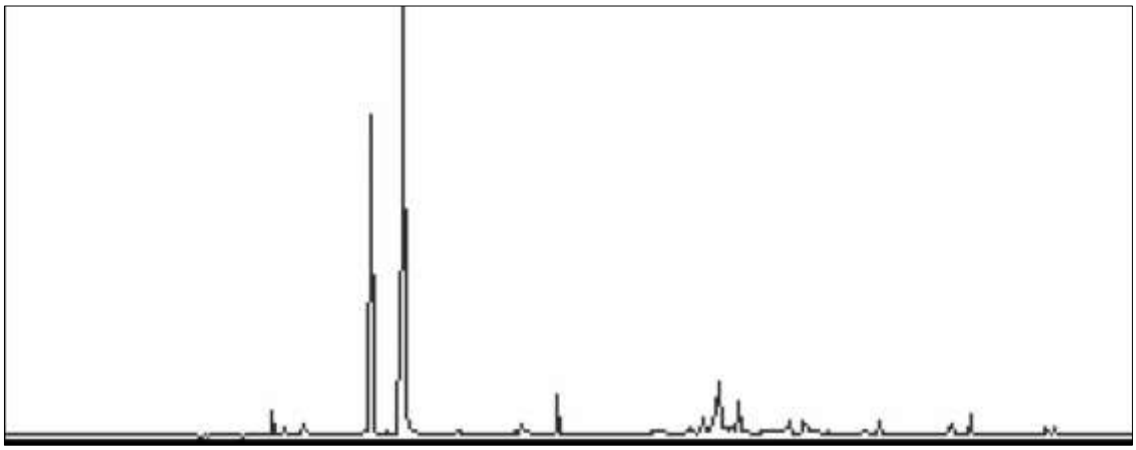


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Melissa officinalis* L., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama.

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
4	1579	óxido de cariofileno	3,9- 6,4

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:

$$\mathrm{TDHC} = \frac{\mathrm{A} \times 5}{m \times 400}$$

em que,

TDHC = teor de derivados hidroxicinâmicos totais, expressos em ácido rosmarínico % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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 centrífuga 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 × *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.

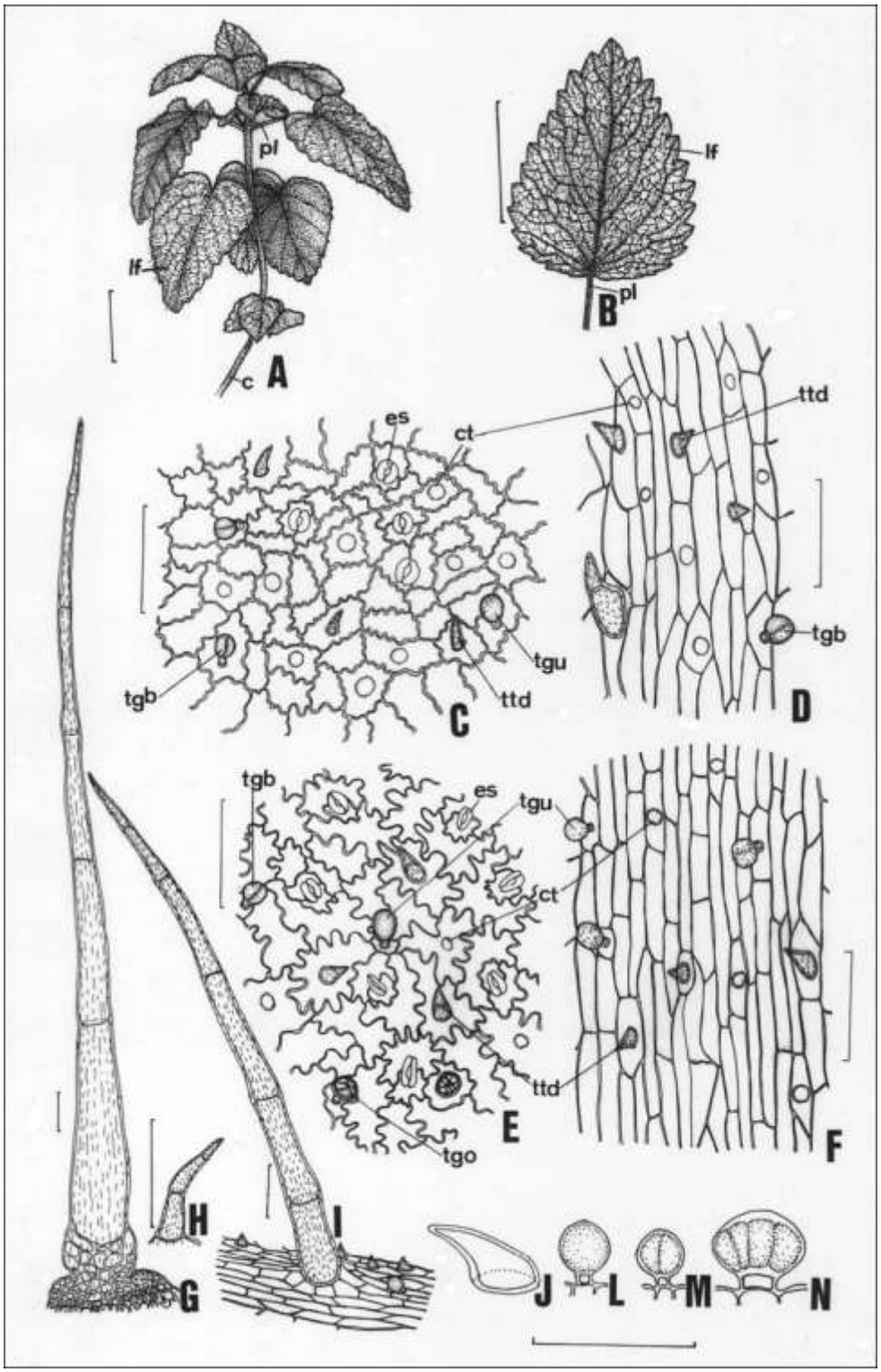


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Melissa officinalis* L.

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.

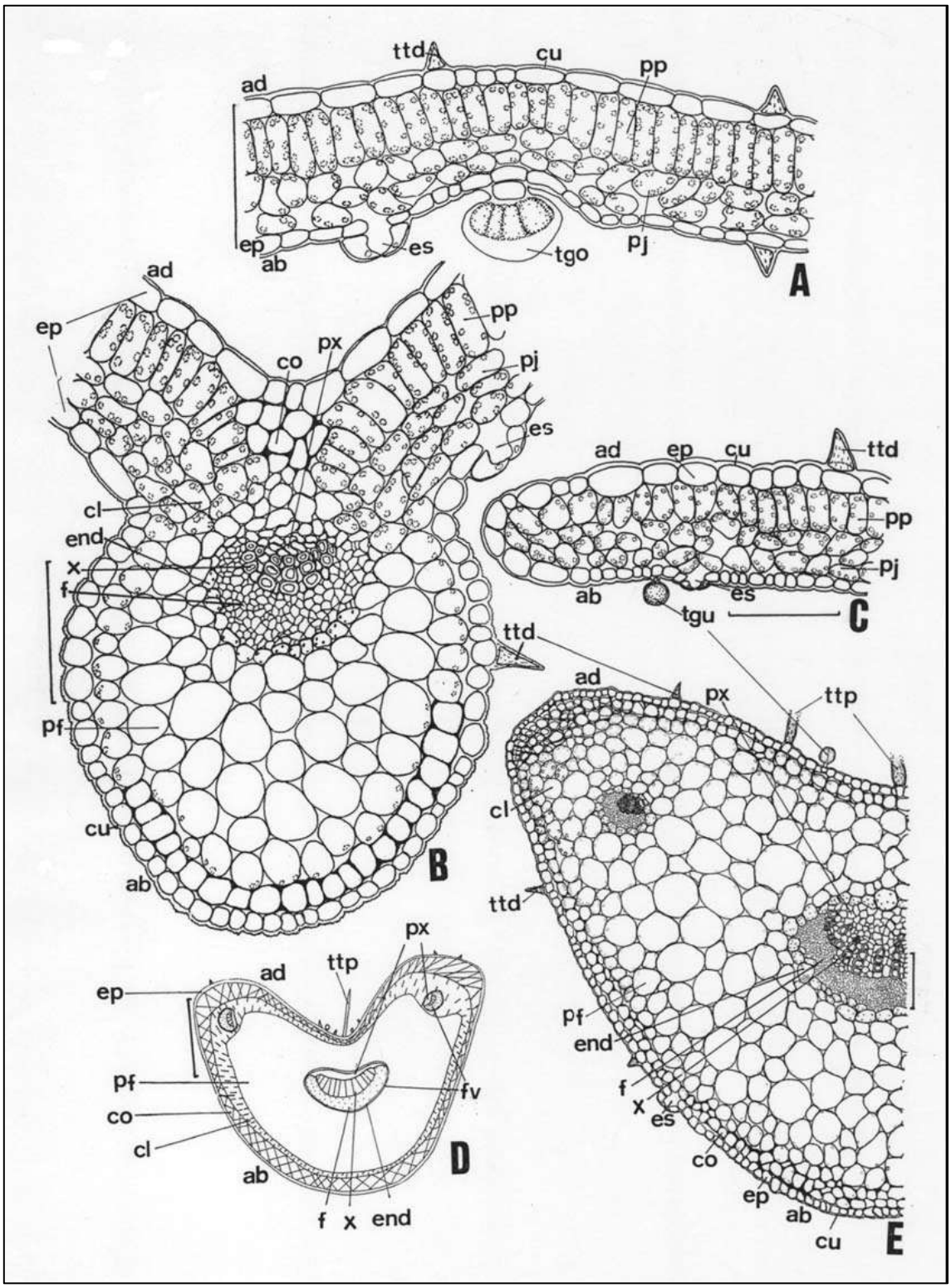


Figura 3 – Aspectos microscópicos em *Melissa officinalis* L.

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 (ttd); 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 (ttd); 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 (ttd). **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 (ttp); 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 (ttd); tricoma tector pluricelular unisseriado, tipo 3 (ttp), 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 ($C_6H_6O_3$; 126,11) e 2,0% de metilxantinas expressos em cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$, 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 GF_{254}.(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 cromatoplaca.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar por alguns minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar com solução de iodeto de potássio e subnitrato 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.



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:

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

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.

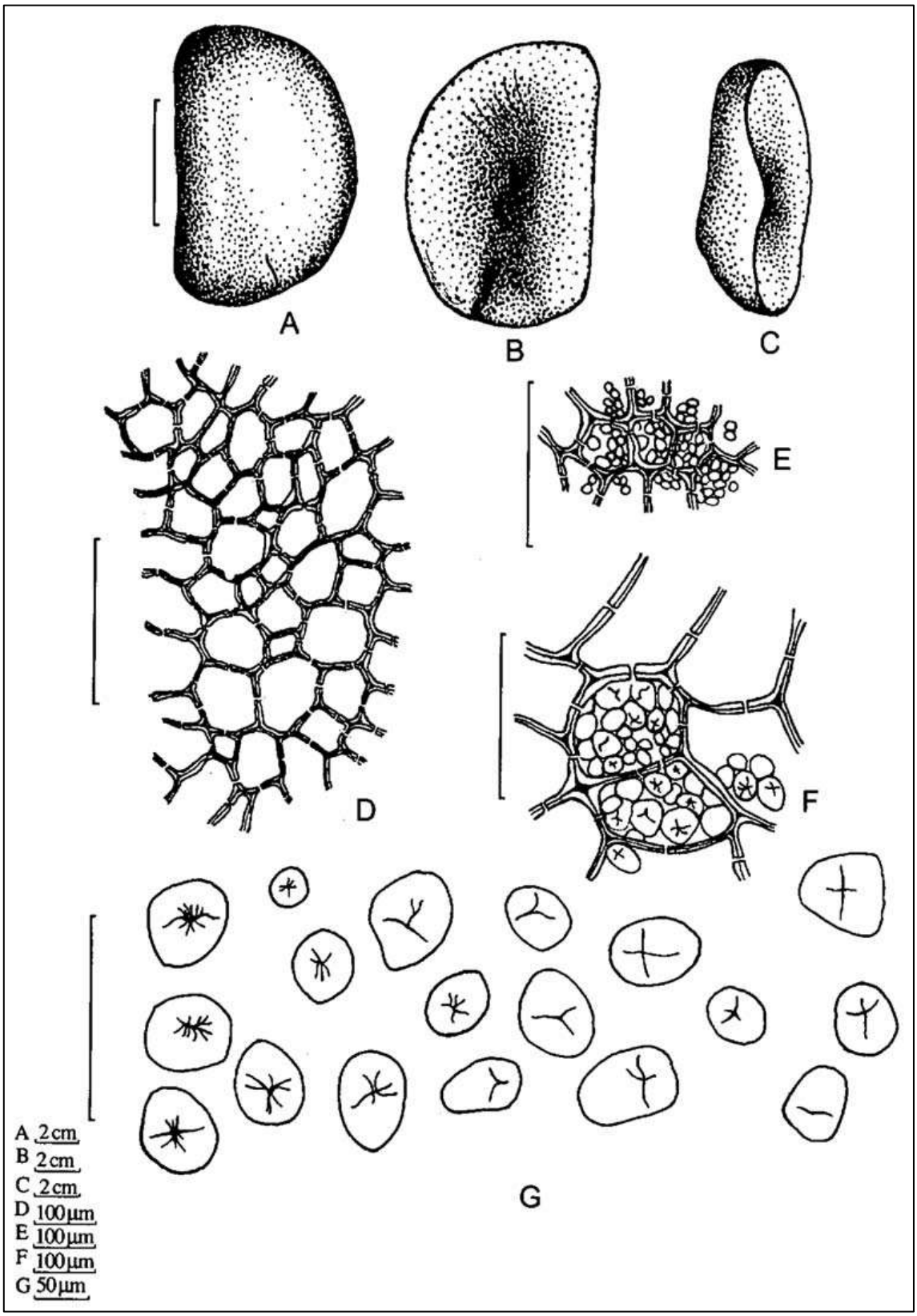


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl.

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 cotilédone. **B –** aspecto da face interna do cotilédone. **C –** cotilédone 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 pétrea, 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 endospérmicas 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 F_{254}, com espessura de 250 µm.

Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (70:20:10).

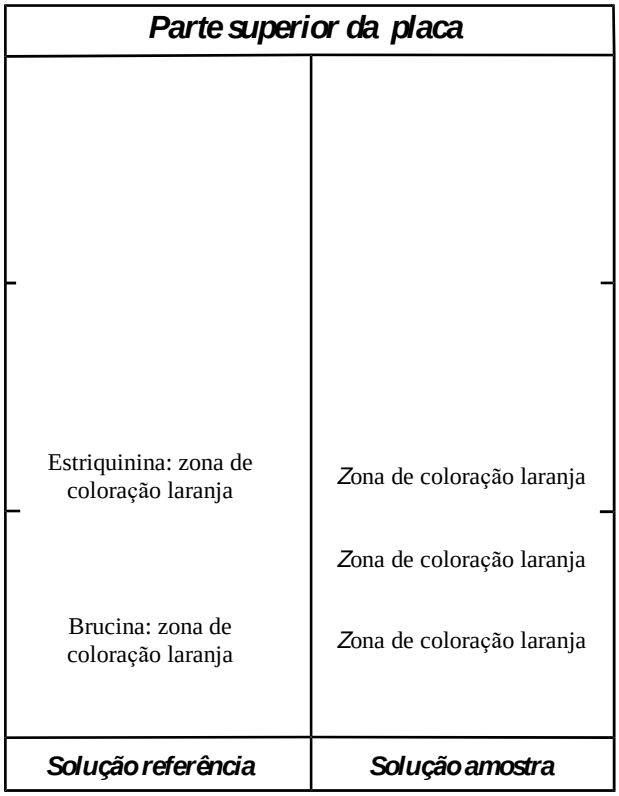
Solução amostra: pesar 1 g da droga vegetal pulverizada e adicionar 20 mL de álcool etílico a 70% (v/v). Levar ao banho-maria durante 15 minutos. Filtrar e evaporar em banho-maria até secura, a temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante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



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 superiora 50 ºC. 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:

$$TE = \frac{A_a \times C_r}{A_r \times C_a}$$

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 mg/mL, considerando a pureza da substância de referência;
C_a = concentração da droga vegetal na *Solução amostra* em mg/mL, considerando a perda por dessecação;

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

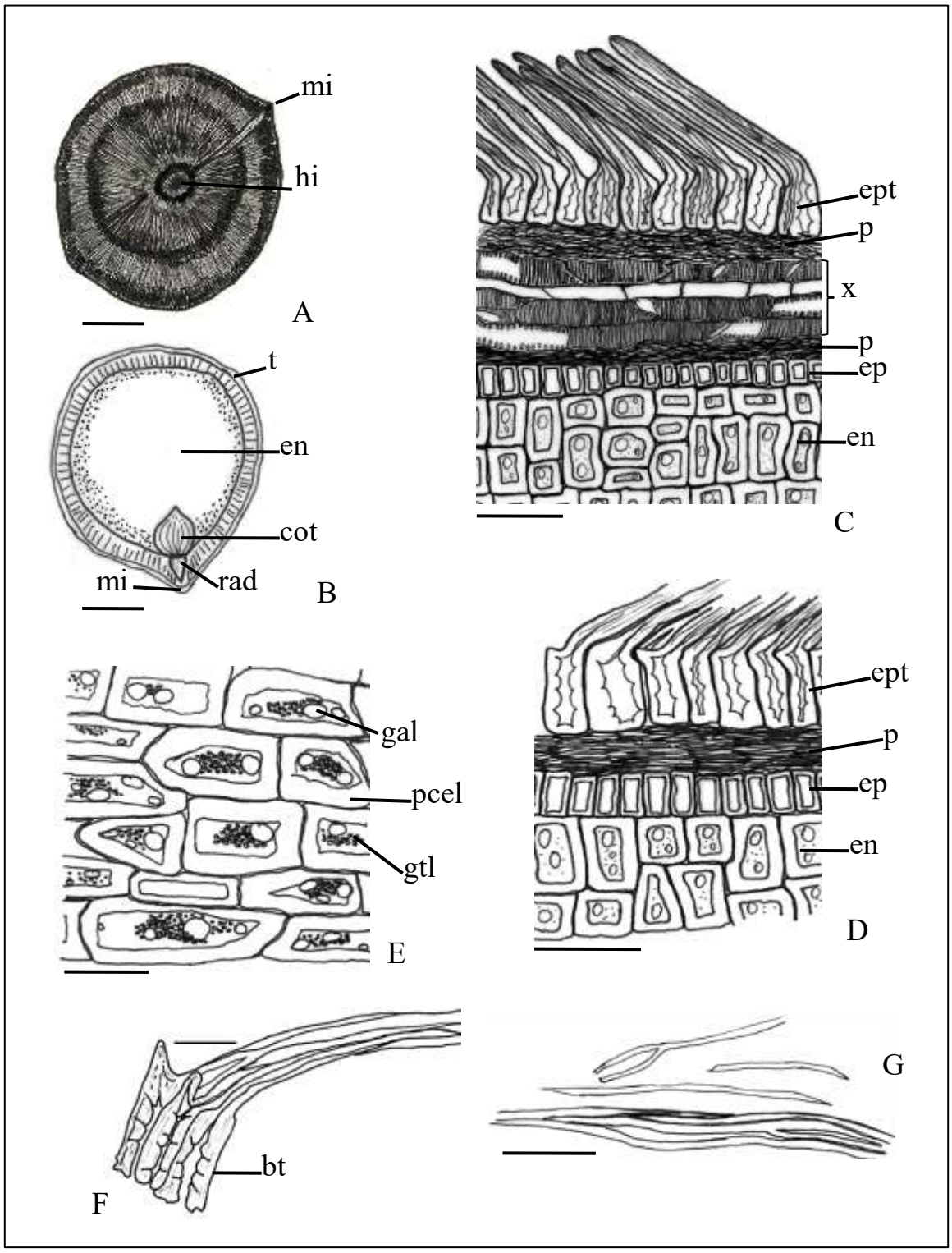


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Strychnos nux-vomica* L.

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 endospérmico 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 pétrea com paredes espessadas e lignificadas e pontoações 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, peninérvea, 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 braciformes relativamente longas. No mesofilo são comuns idioblastos com cristais rômbicos 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 bicolateral, 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 rômbicos 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 subepidermicamente. Grãos de amido, drusas e cristais ocorrem em abundância por todo o parênquima. O feixe vascular configura-se em arco aberto, bicolateral, com abundância de cristais rômbicos no floema, envolto por quatro a oito camadas de tecido parenquimático de paredes

espessadas, 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 braciformes relativamente longas; fragmentos da lâmina contendo cristais rômbicos, drusas em abundância e cavidades secretoras de aspecto brilhante devido à presença de óleo volátil; drusas e cristais rômbicos isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel F_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (75:5:5).

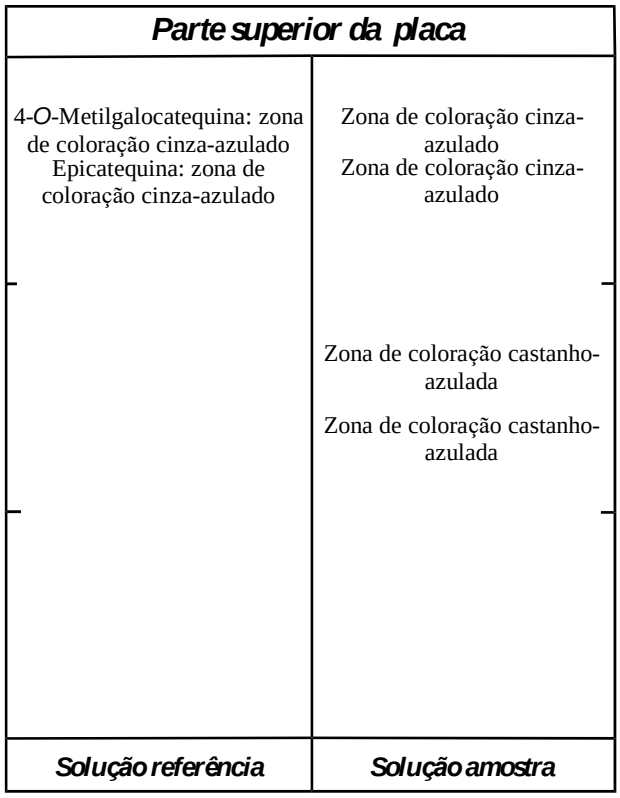
Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 10 g da droga pulverizada, acrescentar 100 mL de água e aquecer sob refluxo por 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão, sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 25 mL de acetato de etila em funil de separação de 125 mL. Deixar em repousou 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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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.



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 (ºC)
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:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr_x} - \mathrm{tr_z})}{(\mathrm{tr_{z+1}} - \mathrm{tr_z})}$$

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 µm), 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:

$$\mathrm{IE} = \frac{1000}{\mathrm{A}}$$

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:

$$\mathrm{TQ} = \frac{\mathrm{A} \times 62500}{m \times 500}$$

em que,

TQ = teor de flavonoides totais expressos em quercetina % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
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.

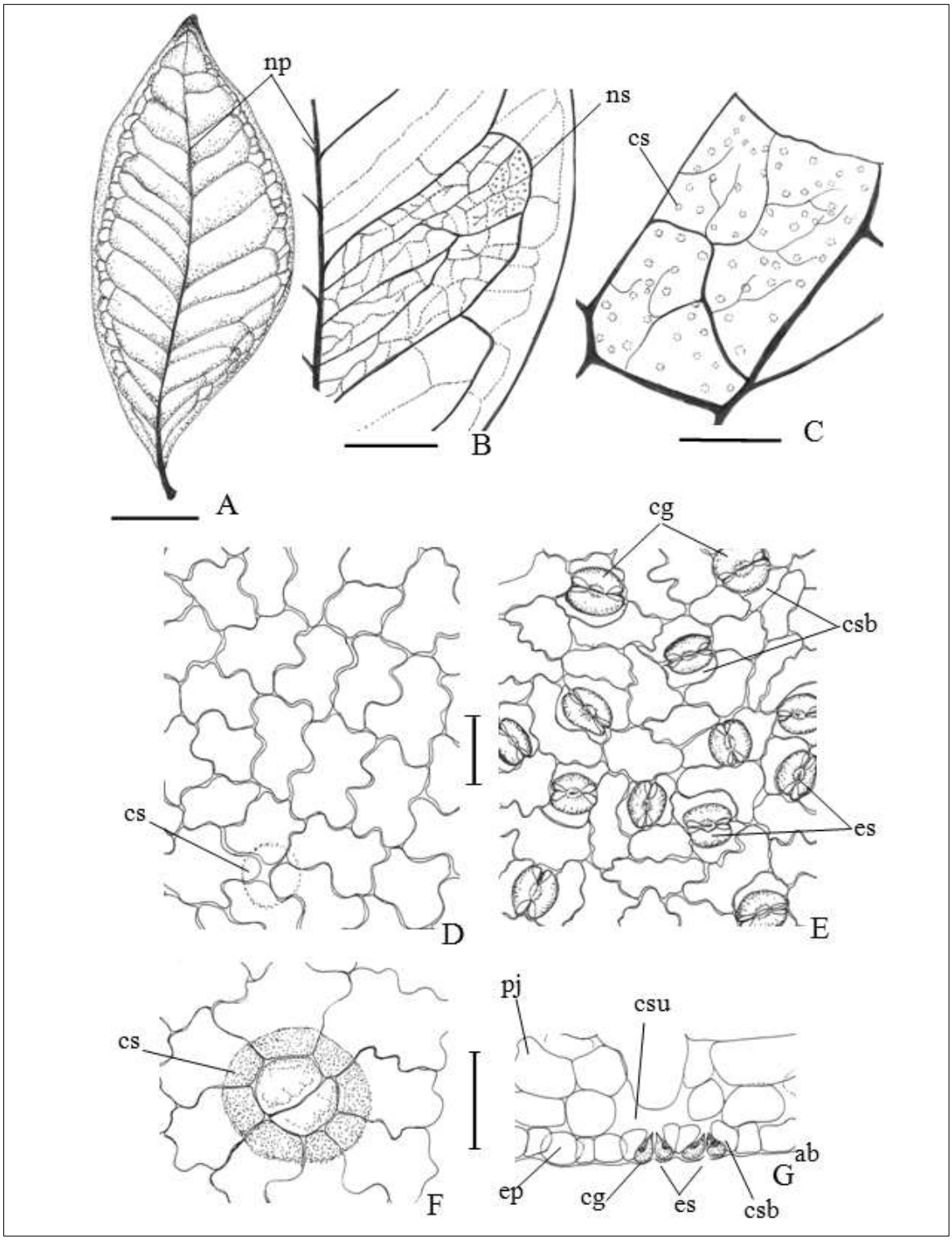


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eugenia uniflora* L.

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 μm.
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).

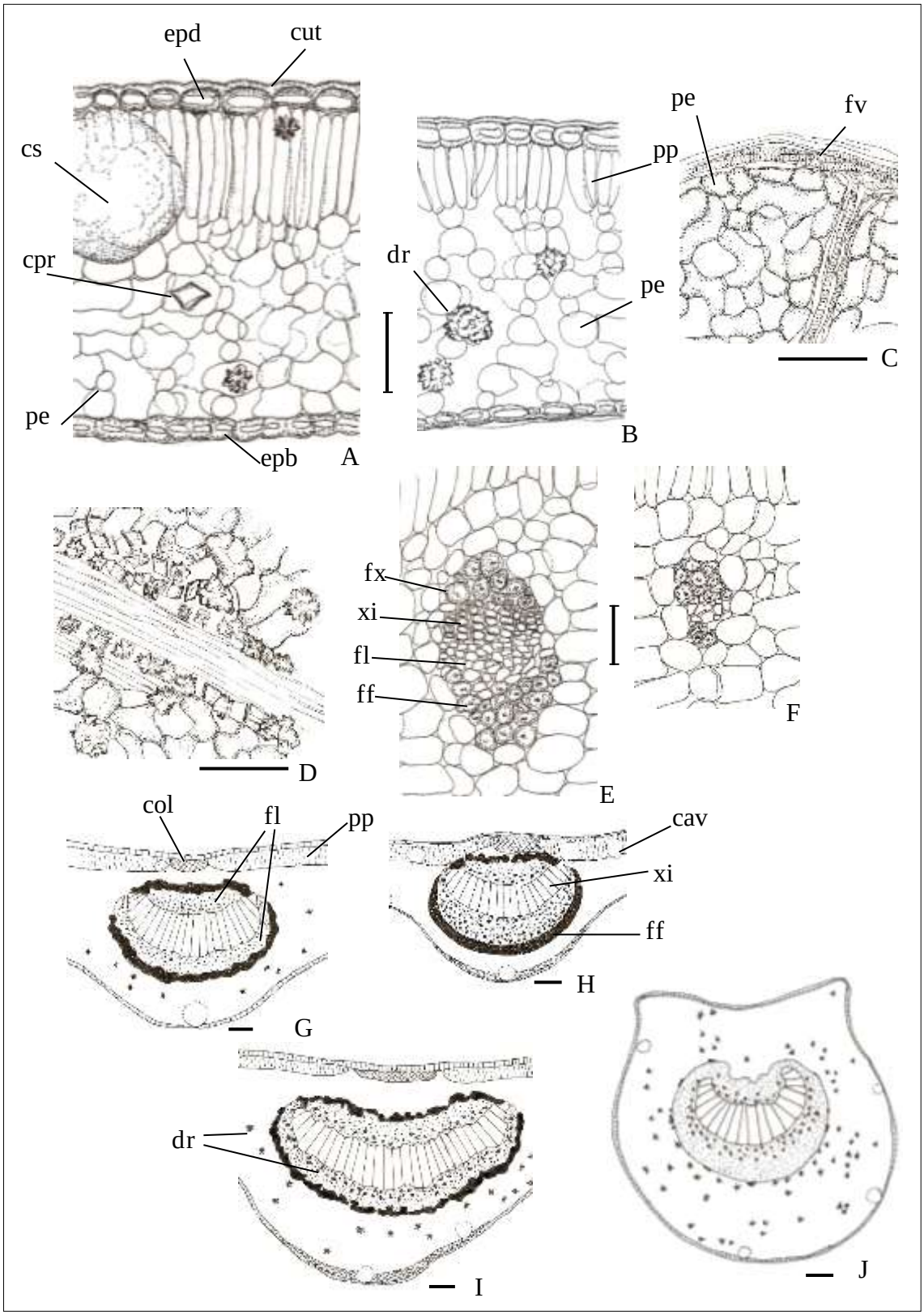


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Eugenia uniflora* L.

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 mesofilo 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 intumesce 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 ºC 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.

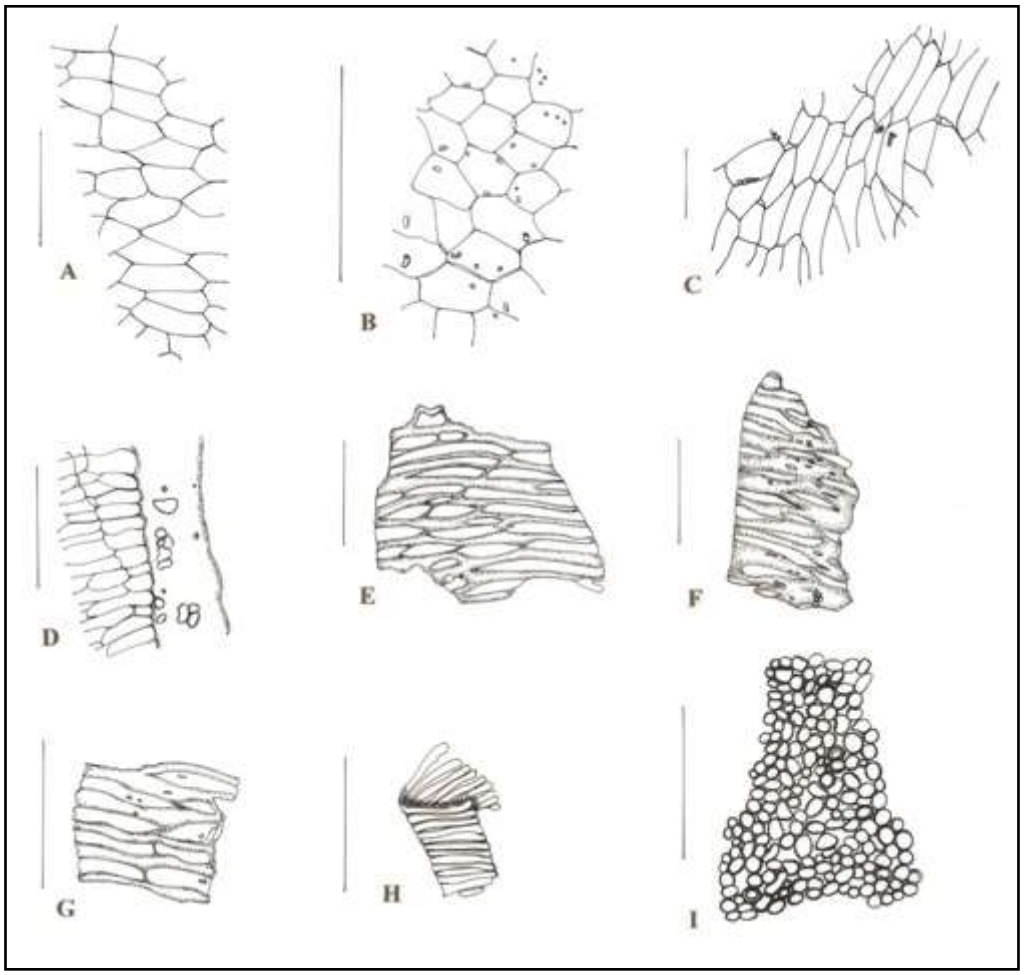


Figura 1 – Aspectos microscópicos do pó do tegumento da semente de *Plantago ovata* Forssk.

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).

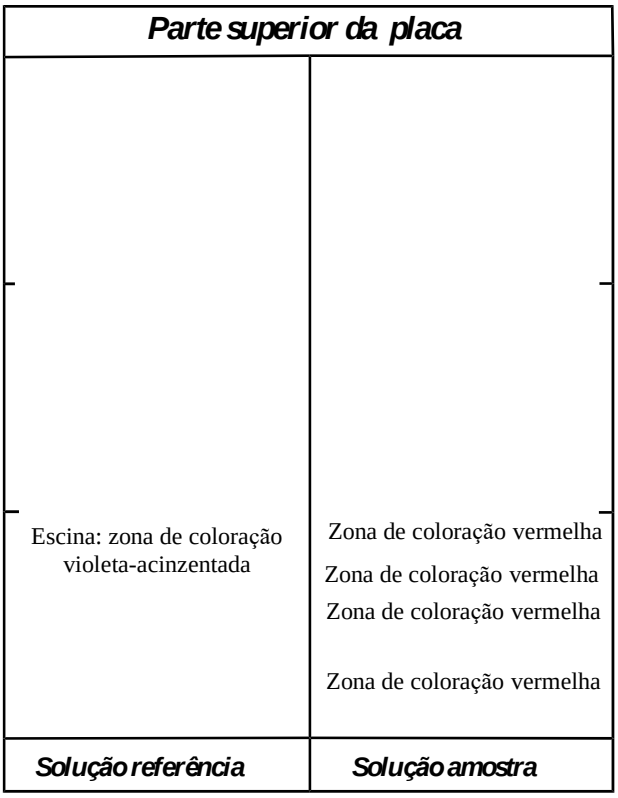
Fase móvel: utilizar a fase superior da mistura de álcool butílico, água e ácido acético glacial (50:40:10).

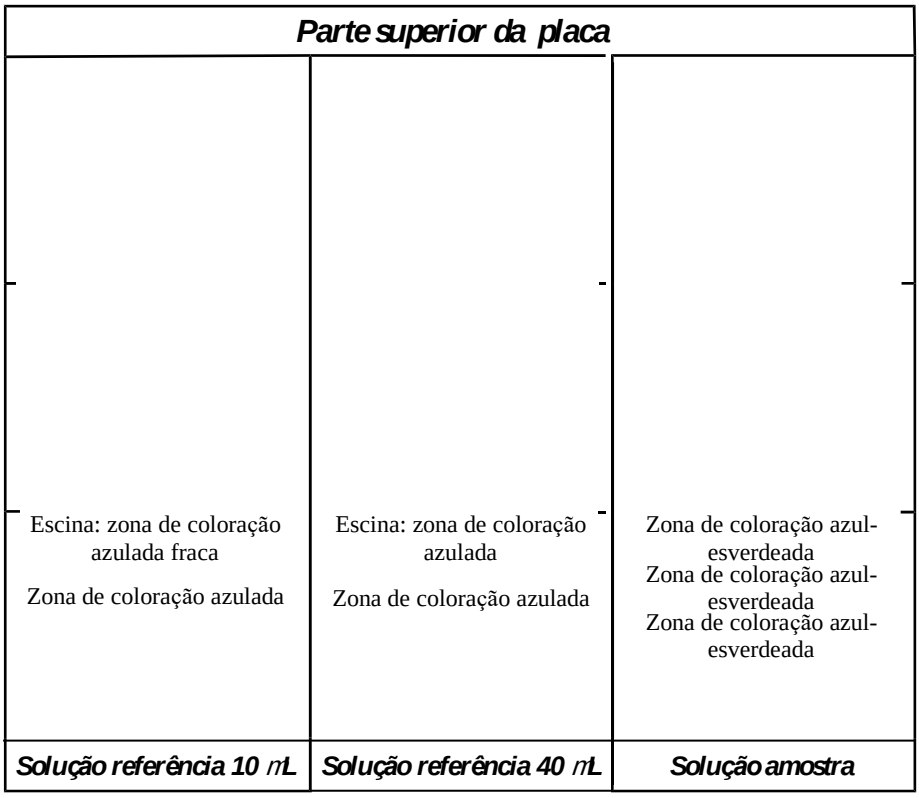
Solução amostra: pesar 1 g da droga em pó, adicionar 10 mL de álcool etílico a 70% (v/v) e deixar em ebulição por 15 minutos, sob refluxo. Filtrar e resfriar.

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 ºC e 105 ºC, até o aparecimento de manchas vermelhas correspondentes aos saponosídeos. Nebulizar a segunda placa com ácido fosfomolíbdico 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.





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:

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

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.

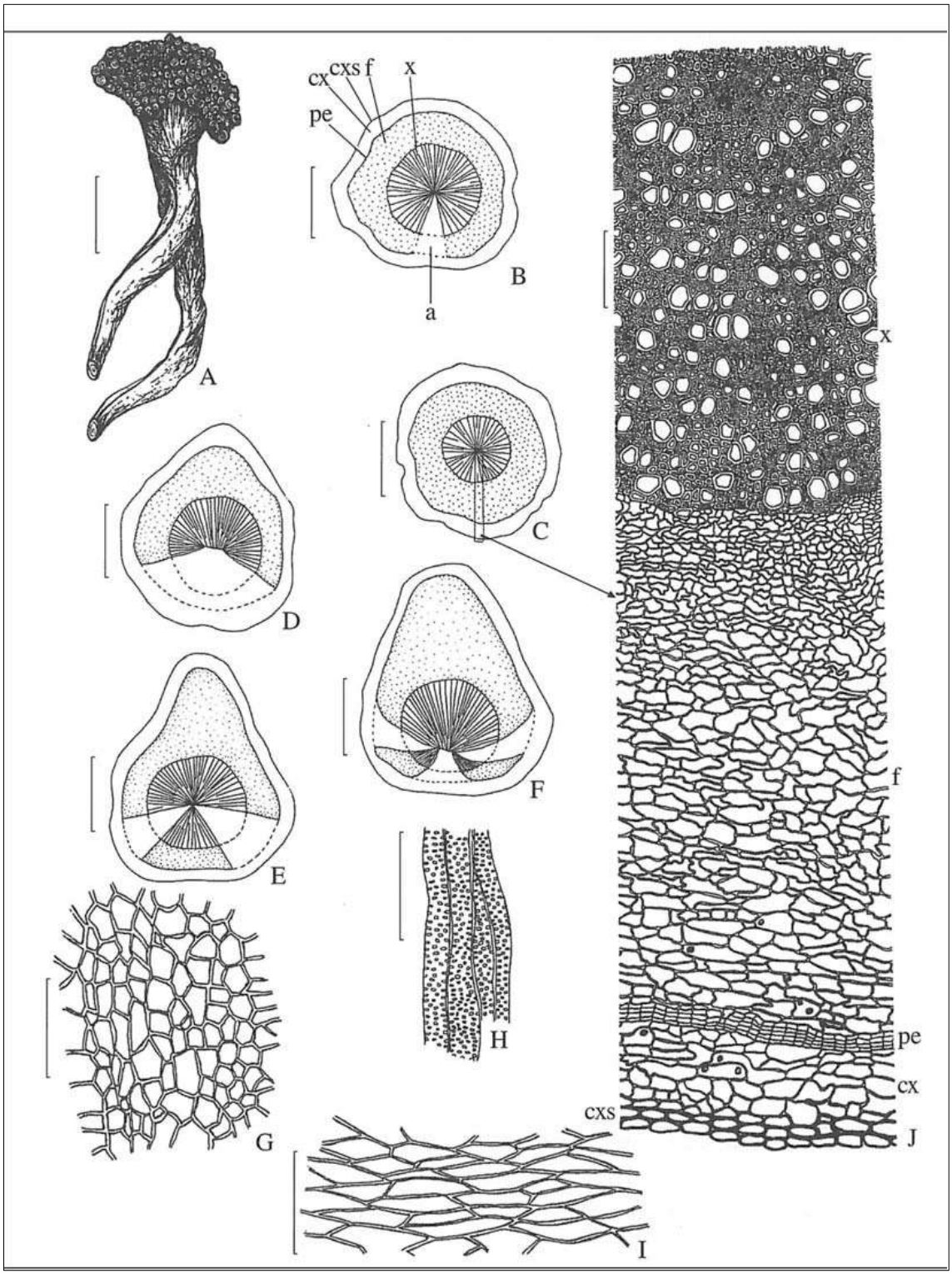


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó da raiz em *Polygala senega* L.

_____

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 ($C_7H_6O_5$, 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 estiletes 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 perifericamente. 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 GF_{254} (0,250 mm).

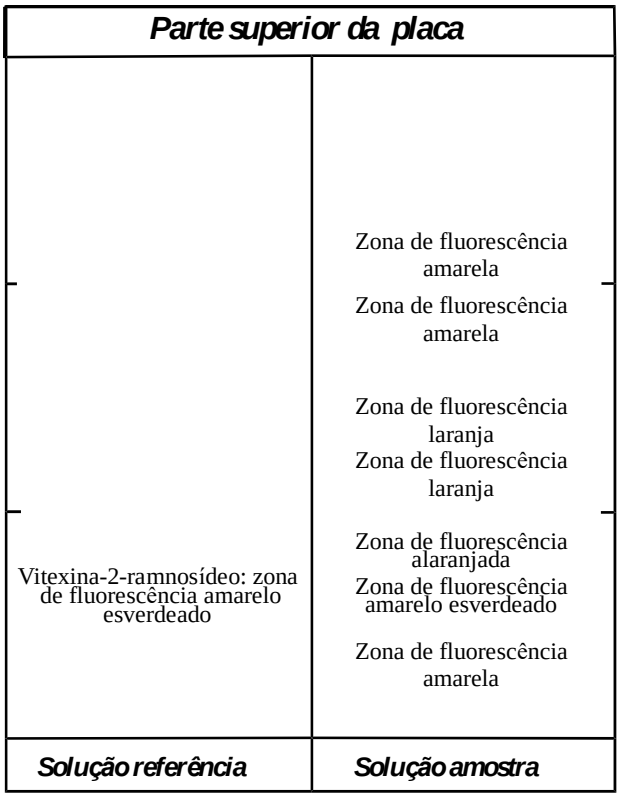
Fase móvel: acetato de etila, água, ácido fórmico e ácido acético (100:26:11:11.

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca, 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.



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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}(0,250 mm).

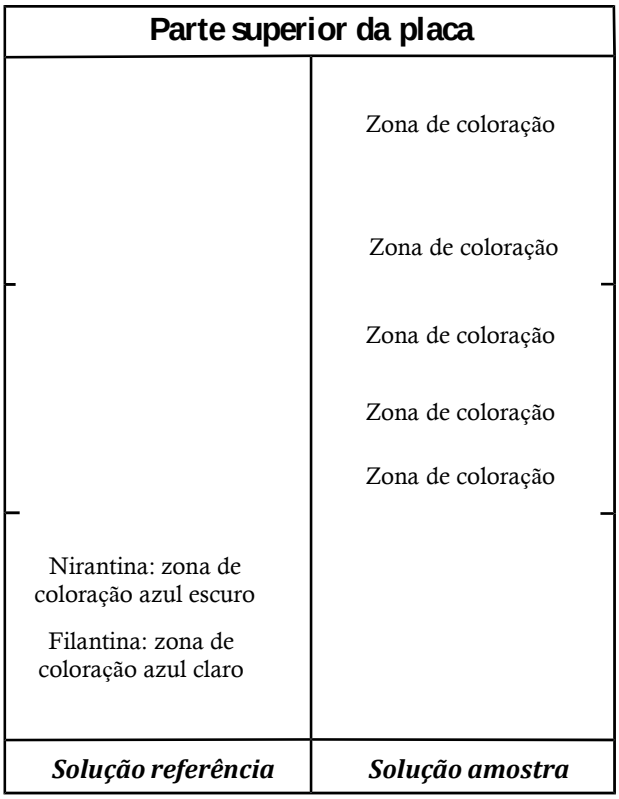
Fase móvel: hexano e acetato de etila (70:30).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 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 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.



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 μg/ mL, 4,0 μg/mL, 6,0 μg/mL, 10,0 μg/mL e 14,0 μg/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.

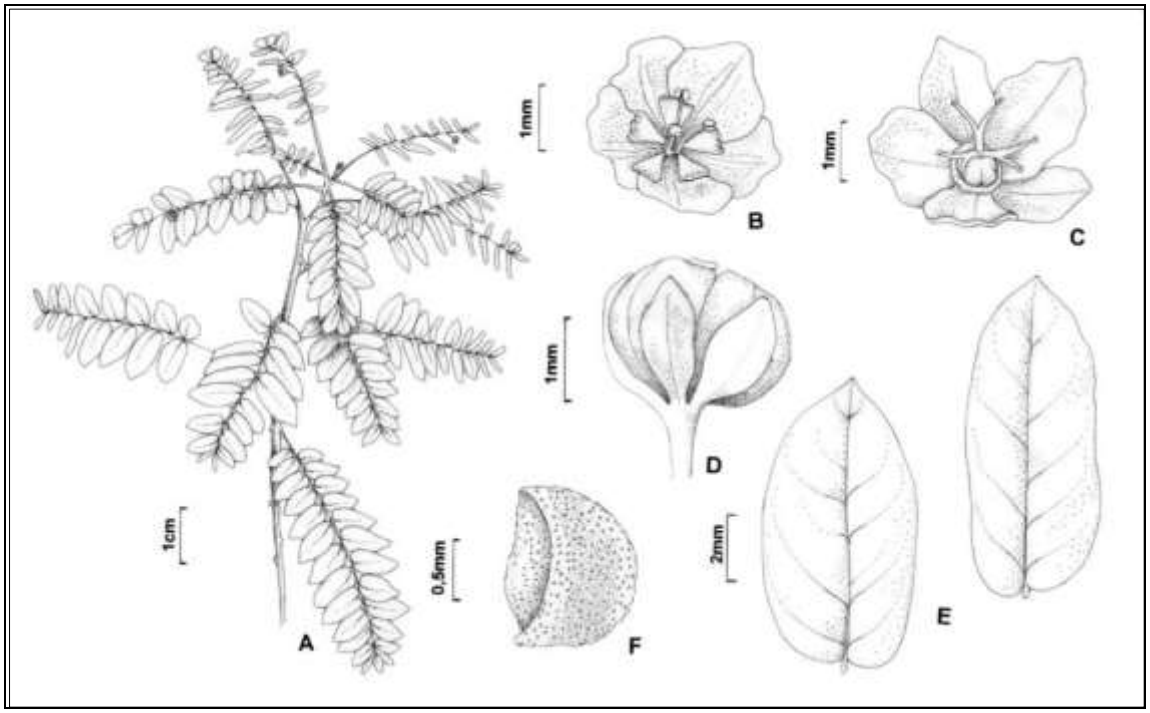


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

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.

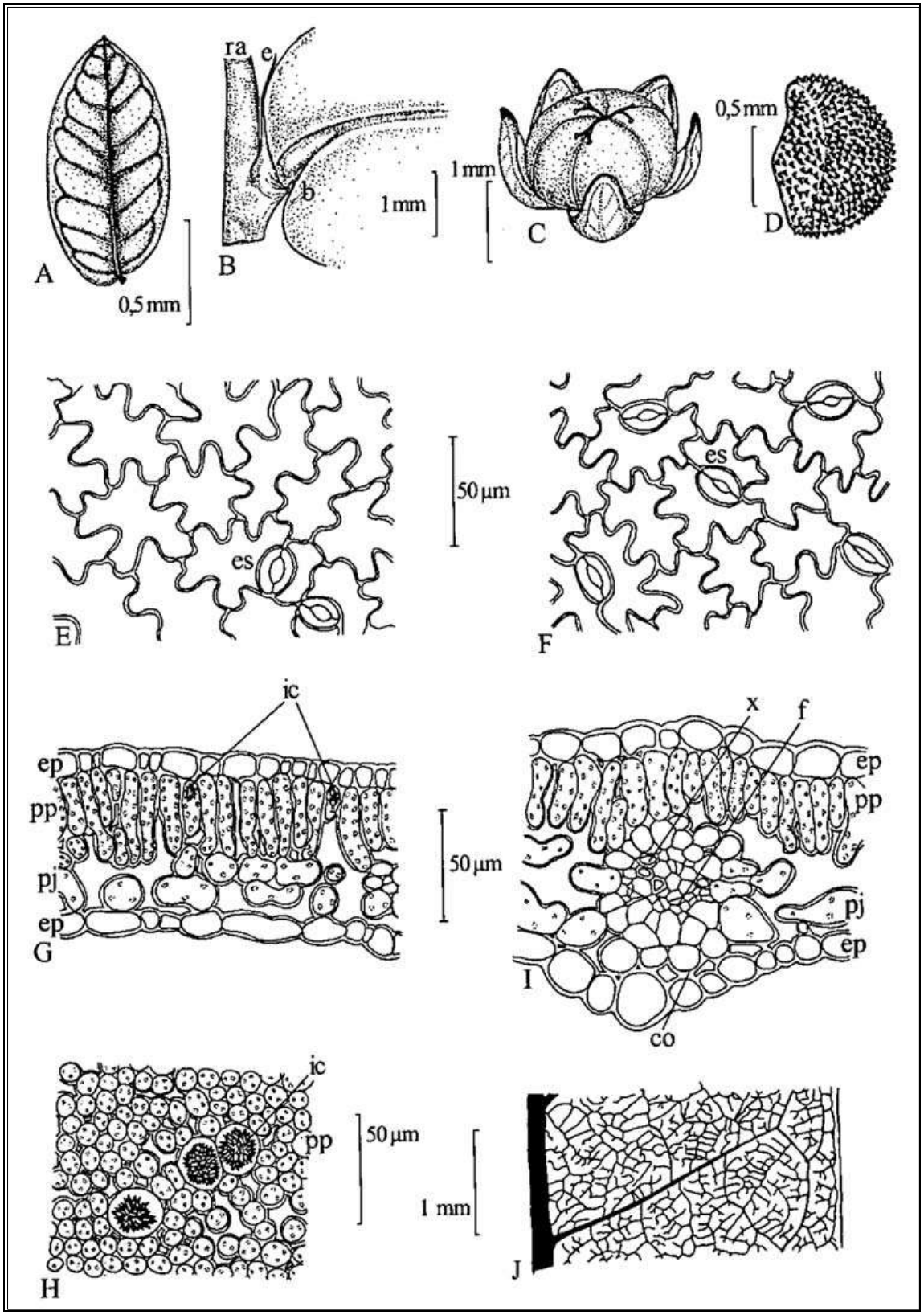


Figura 2 – **Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.**

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.

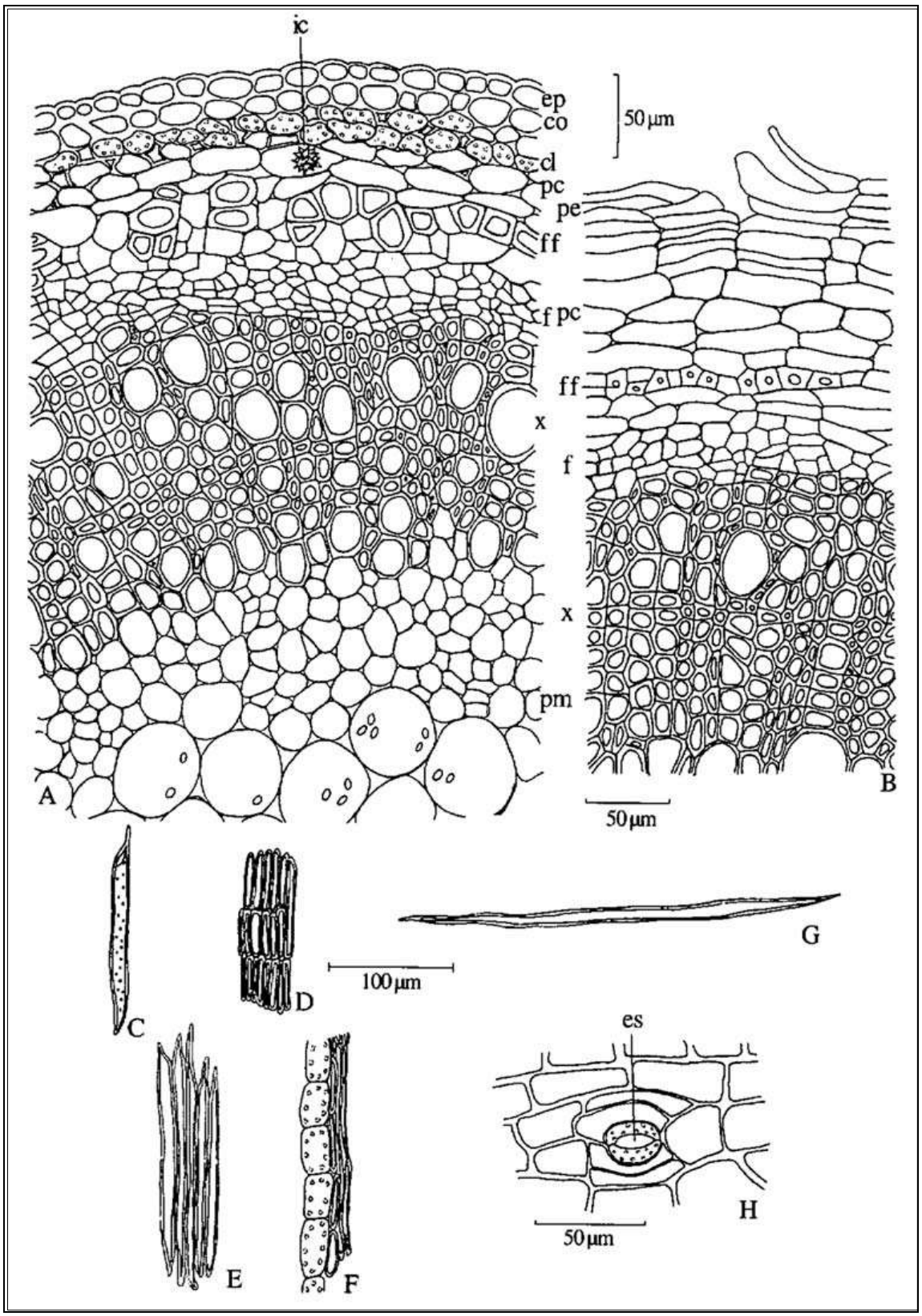


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

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 pontoado 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 ($C_7H_6O_5$, 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-obovaladas, 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 estiletes 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, 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 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 perifericamente. 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 GF_{254} (0,250 mm).

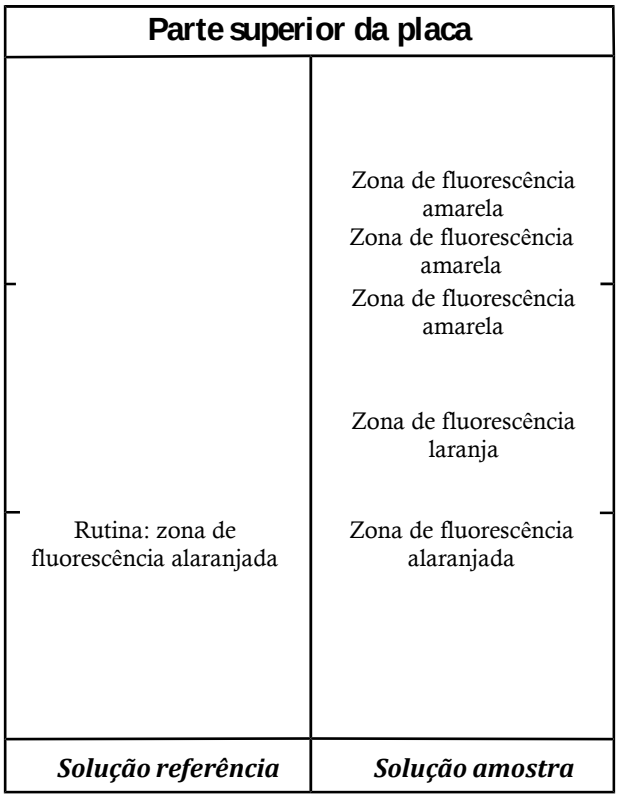
Fase móvel: acetato de etila, água, ácido fórmico e ácido acético (100:26:11:11).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da S*olução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca, 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.



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

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (0,250 mm).

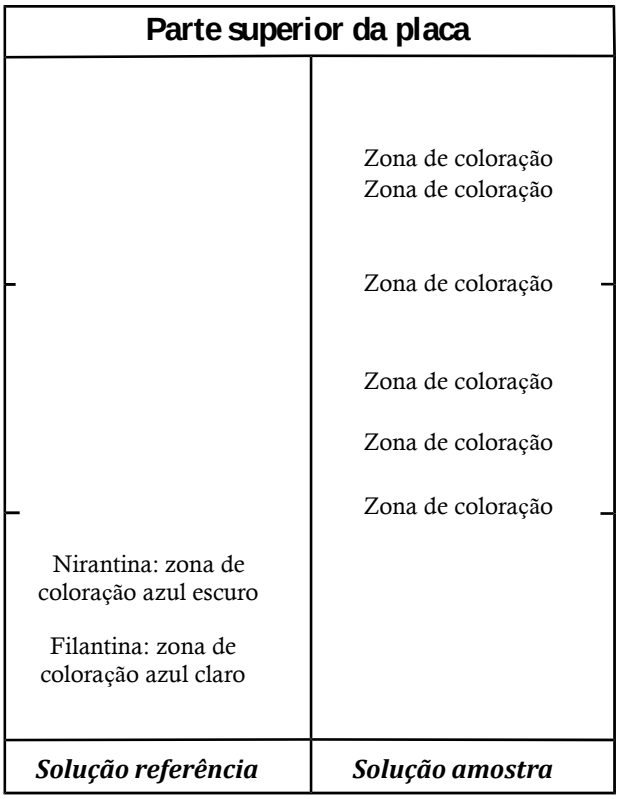
Fase móvel: hexano e acetato de etila (70:30).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da S*olução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca 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.



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 ºC e 90 ºC. 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 S*olução 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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.

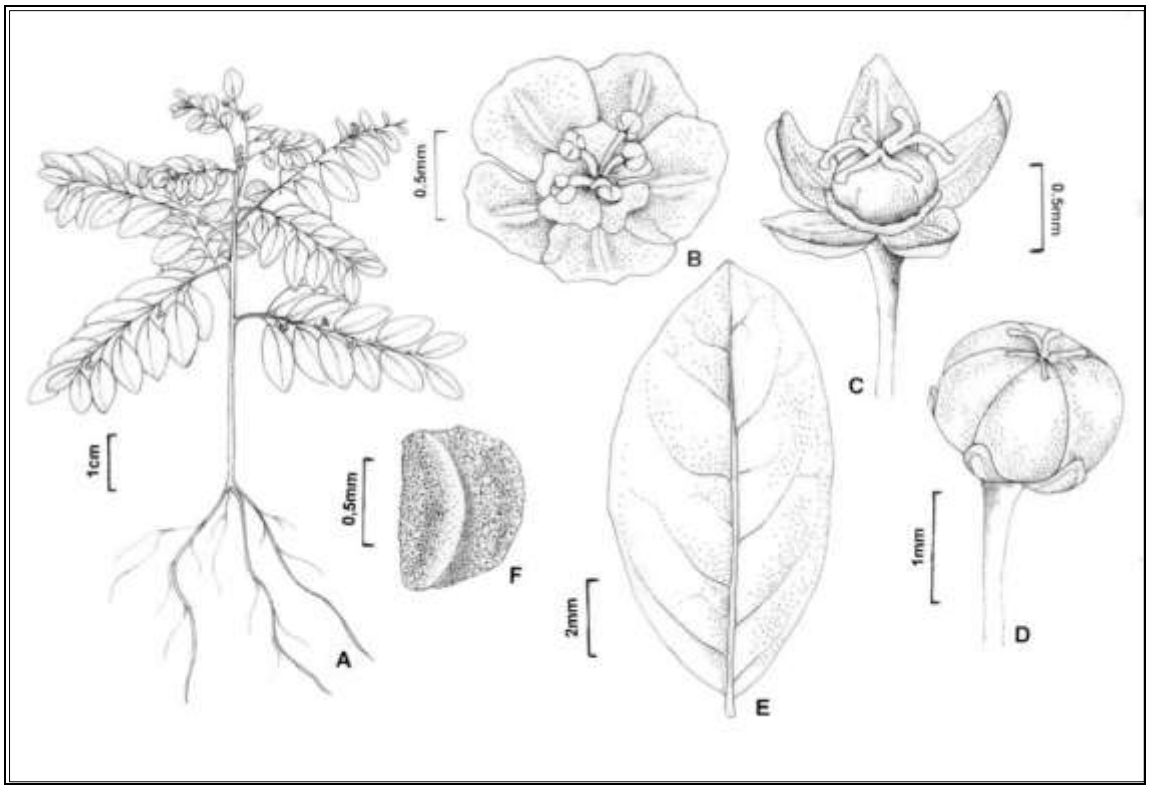


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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.

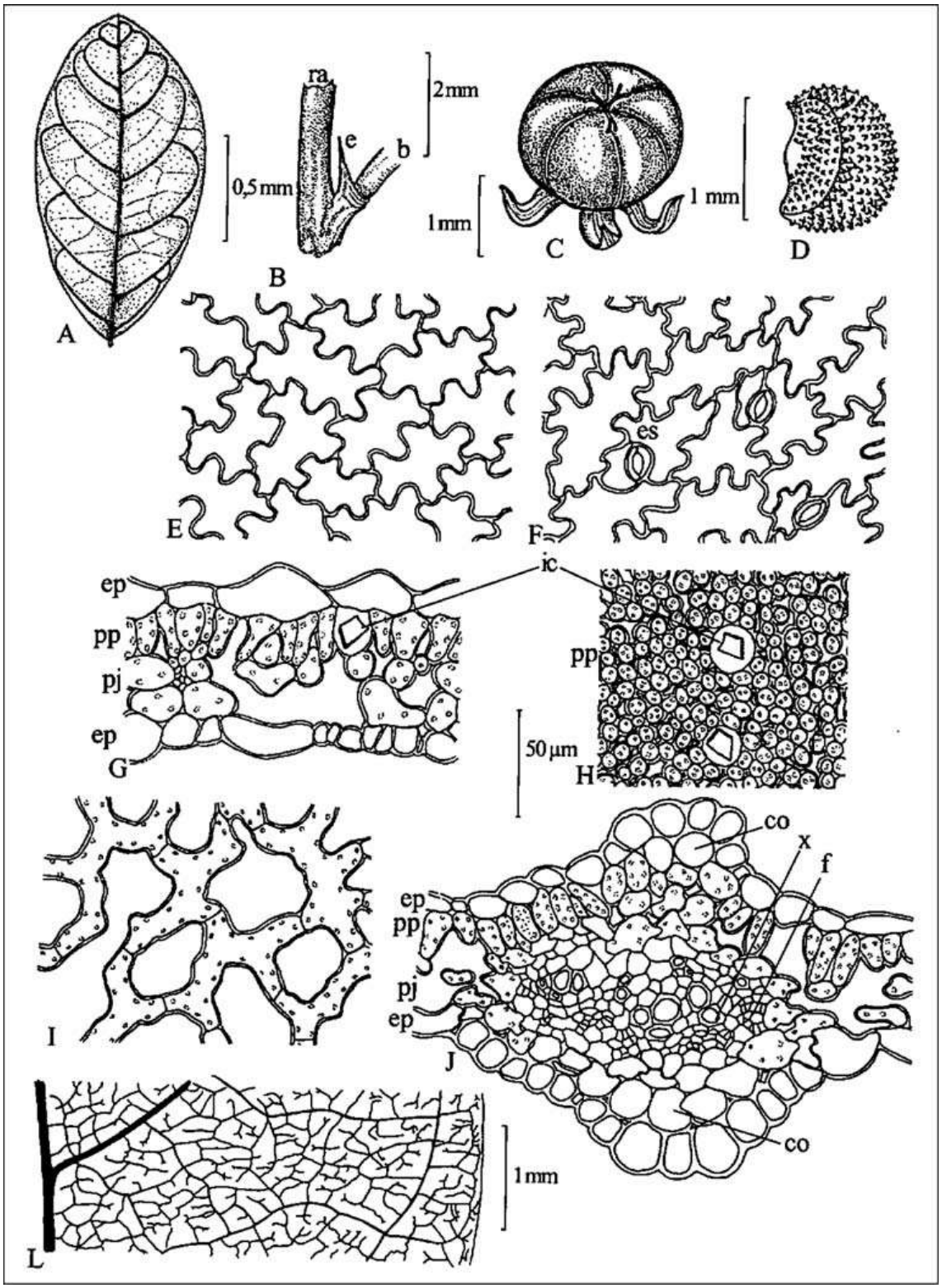


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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.

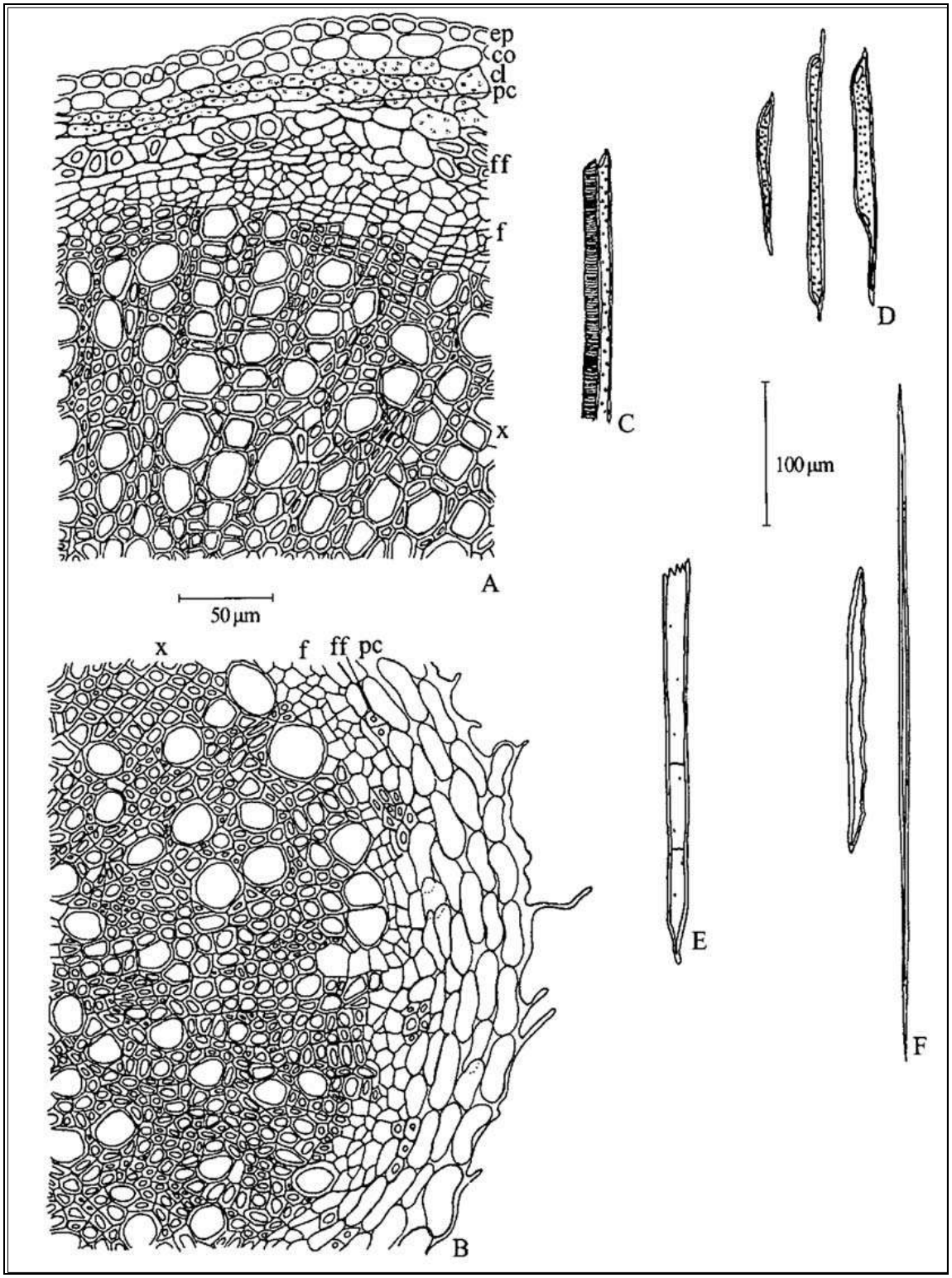


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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 pontoado em vista longitudinal. **D –** elementos de vaso com espessamento pontoado, em vista longitudinal. **E –** vista parcial de uma fibra septada. **F –** fibras em vista longitudinal.

QUILAIA, casca
Quillaiae 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-escura. 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 GF_{254} (0,250 mm).

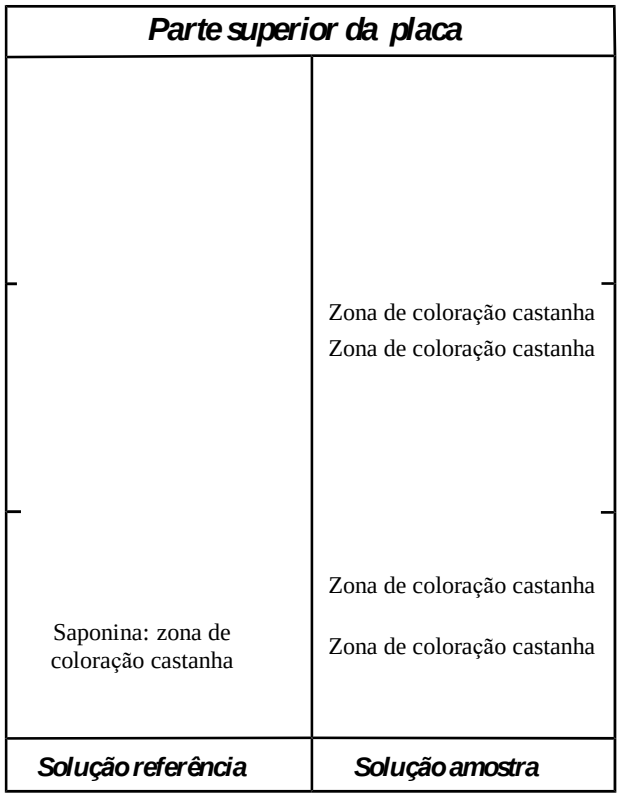
Fase móvel: álcool etílico, clorofórmio e água (40:30:5).

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 cromatoplaca, 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.



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.

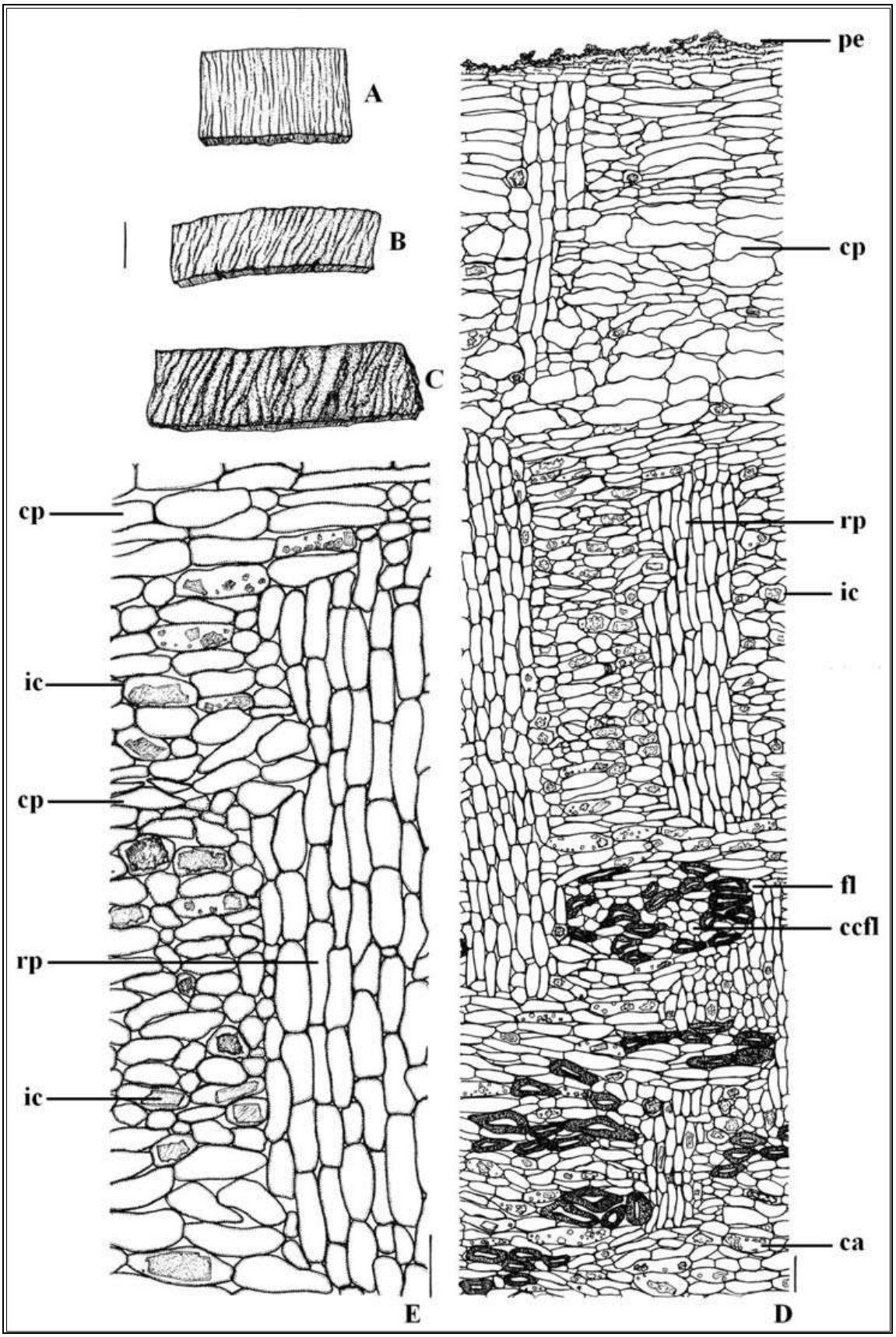


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Quillaja saponaria* Molina

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**).

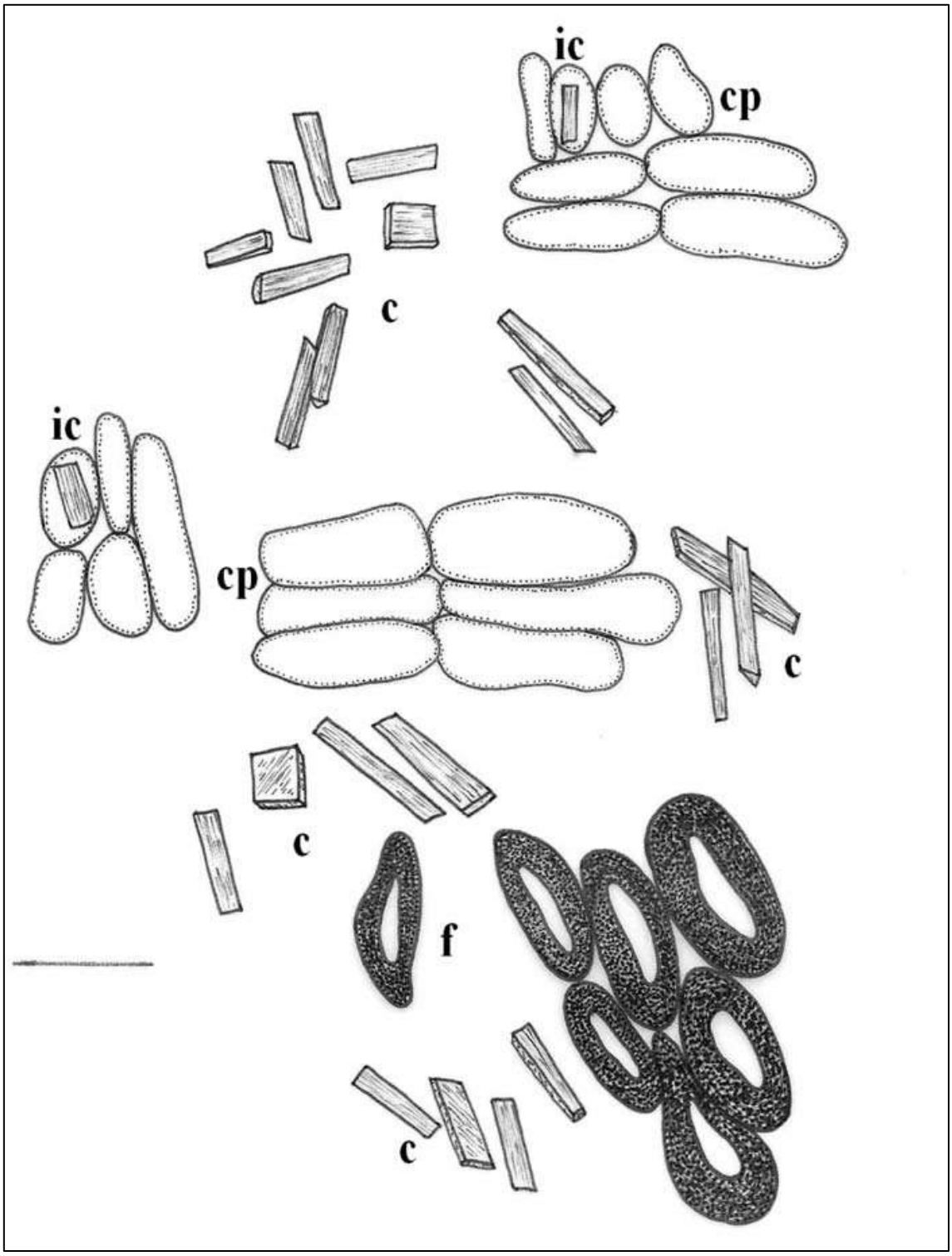


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Quillaja saponaria* Molina

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 ($C_{20}H_{24}N_2O_2$, 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 contém 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 GF_{254} (0,250 mm).

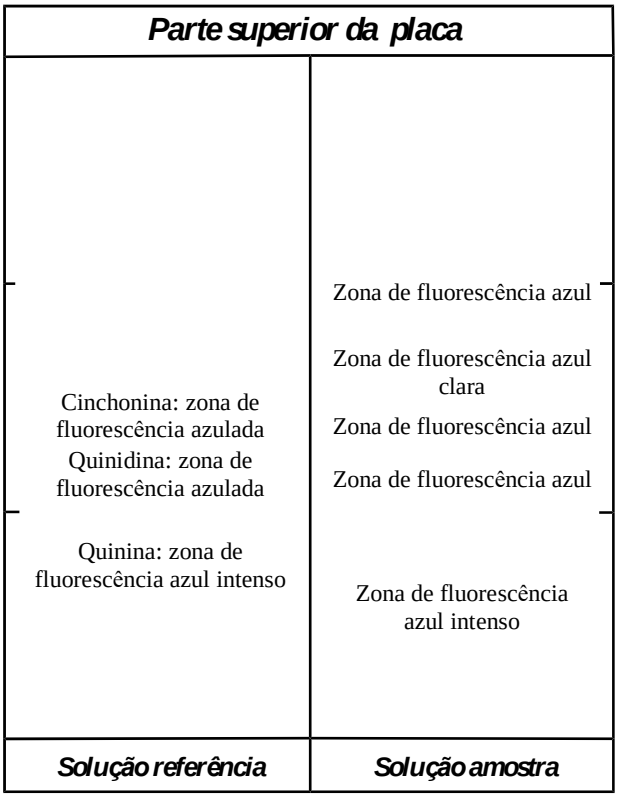
Fase móvel: clorofórmio e dietilamina (90:10).

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 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 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.



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:

$$y = \frac{[A_{316} \times Ac_{348}] - [Ac_{316} \times A_{348}]}{[Aq_{316} \times Ac_{348}] - [Ac_{316} \times Aq_{348}]} \times \frac{100}{m} \times \frac{2}{1000}$$

$$x = \frac{[A_{316} \times Aq_{348}] - [Aq_{316} \times A_{348}]}{[Ac_{316} \times Aq_{348}] - [Aq_{316} \times Ac_{348}]} \times \frac{100}{m} \times \frac{2}{1000}$$

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;
Aq_{316} = absorvância medida para a *Solução referência (1)* em 316 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL;
Aq_{348} = absorvância medida para a *Solução referência (1)* em 348 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL;
Ac_{316} = absorvância medida para a *Solução referência (2)* em 316 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL;
Ac_{348} = 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.

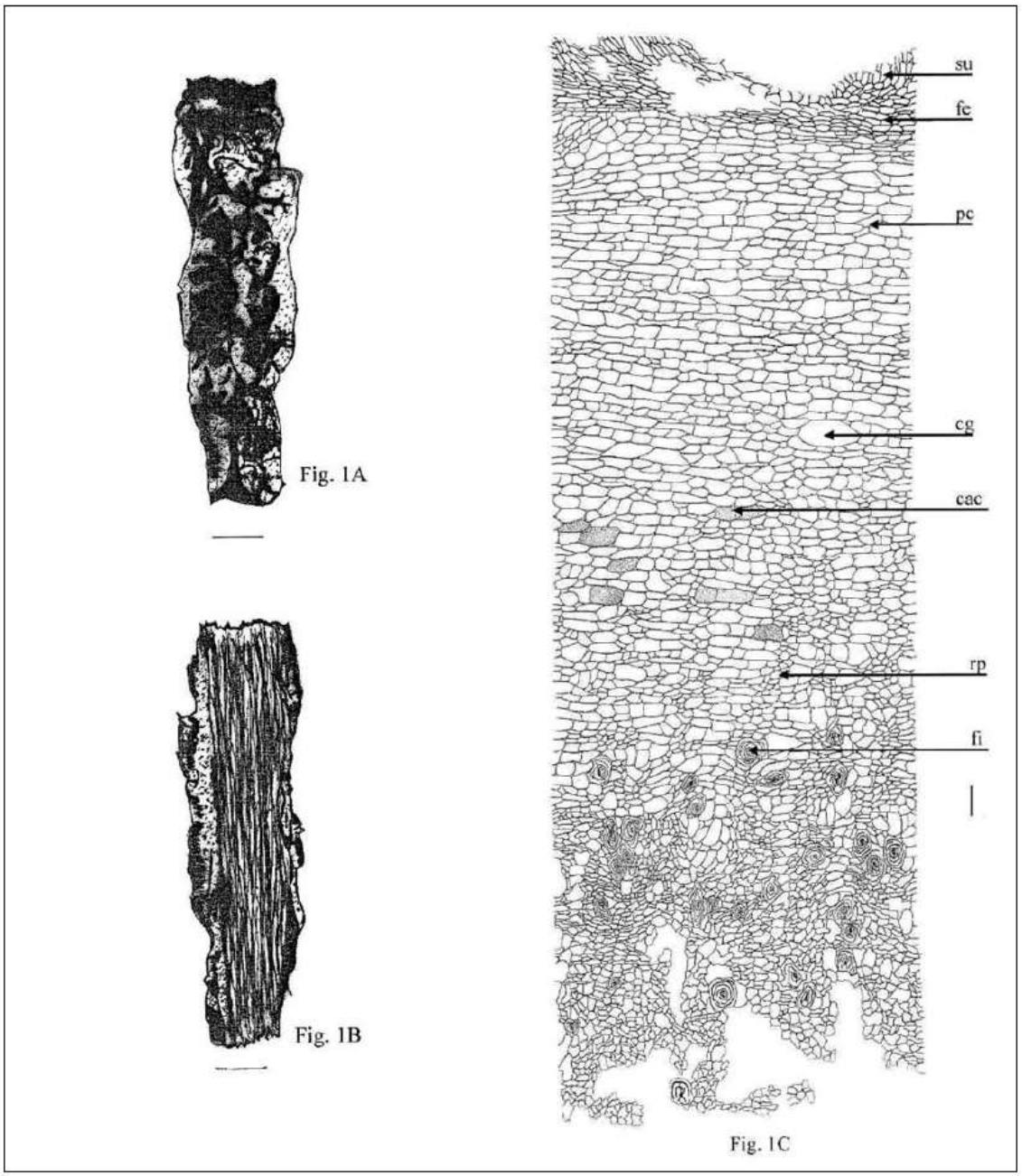


Figura 1 - **Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cinchona calisaya* Wedd.**

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.** secção 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).

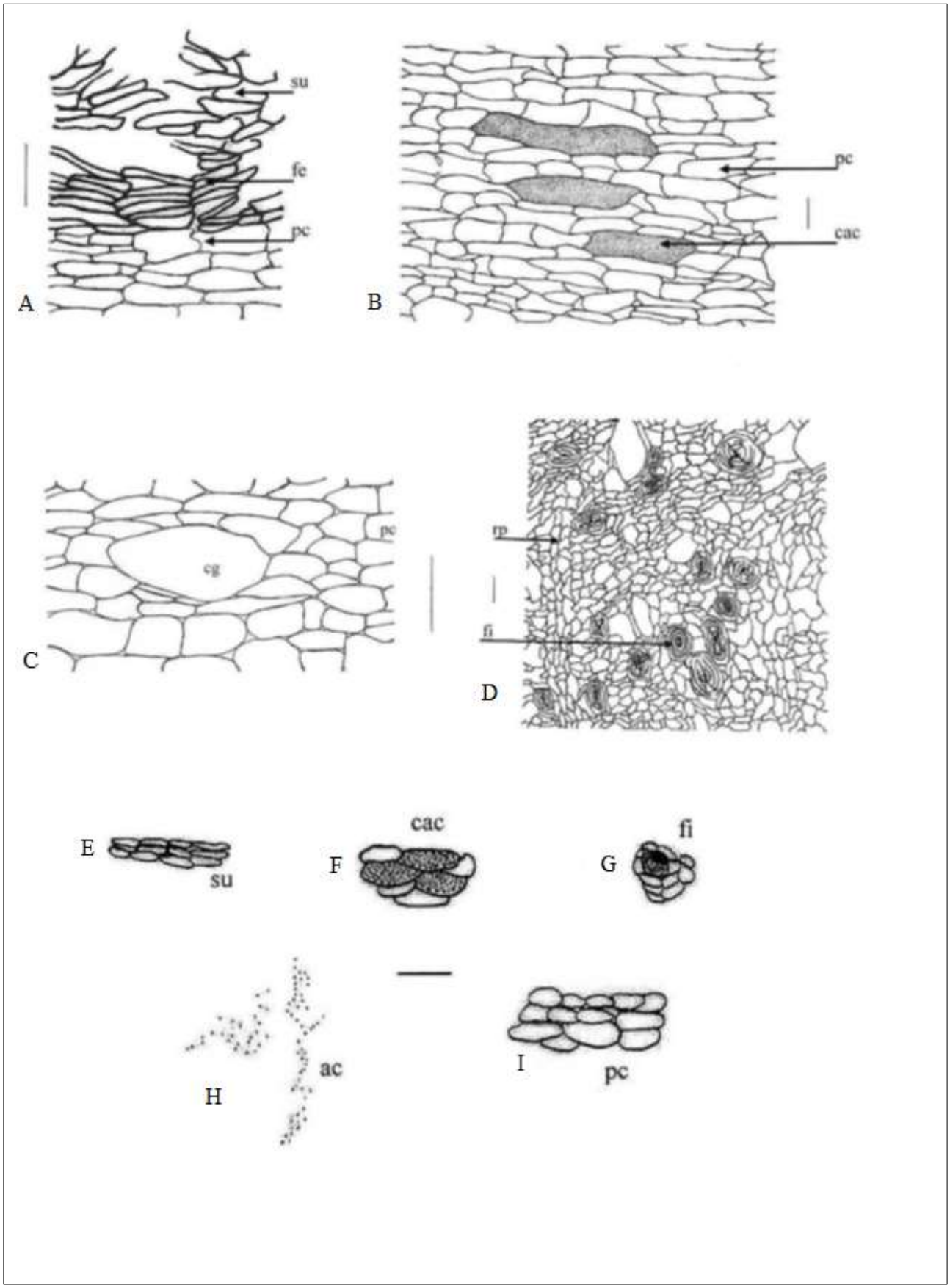


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Cinchona calisaya* Wedd.

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

cristalina; 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 ($C_6H_6O_3$, 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 F_{254} (0,250 mm).

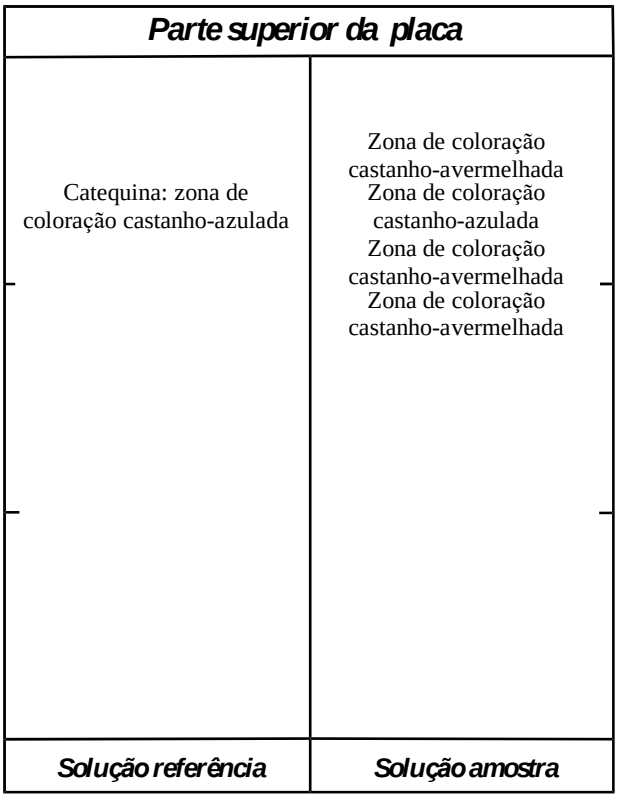
Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (100:10:10:1).

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.



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:

$$\mathrm{TT} = \frac{(\mathrm{A}_1 - \mathrm{A}_2) \times m_2 \times 62{,}5}{\mathrm{A}_3 \times m_1}$$

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.

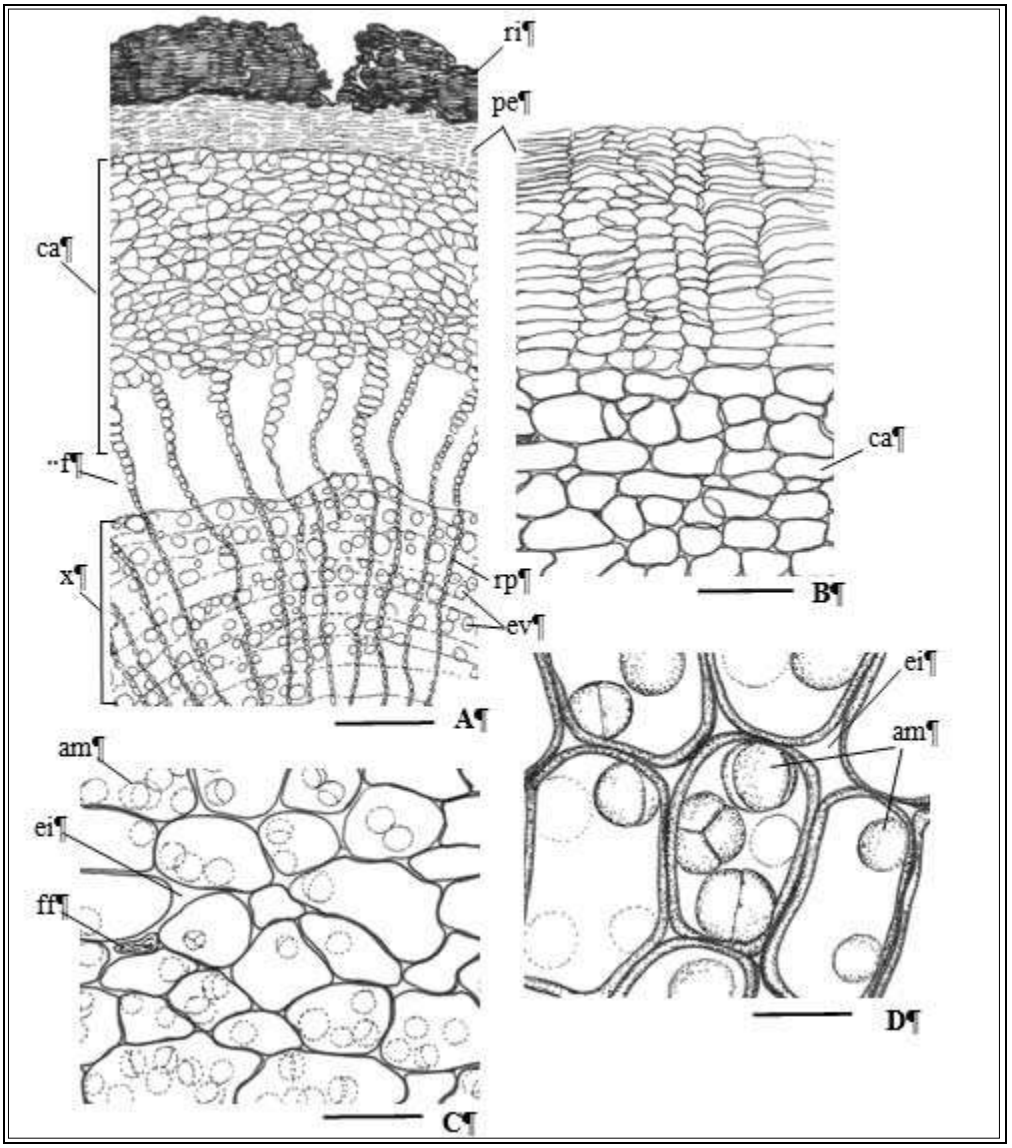


Figura 1 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson

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).

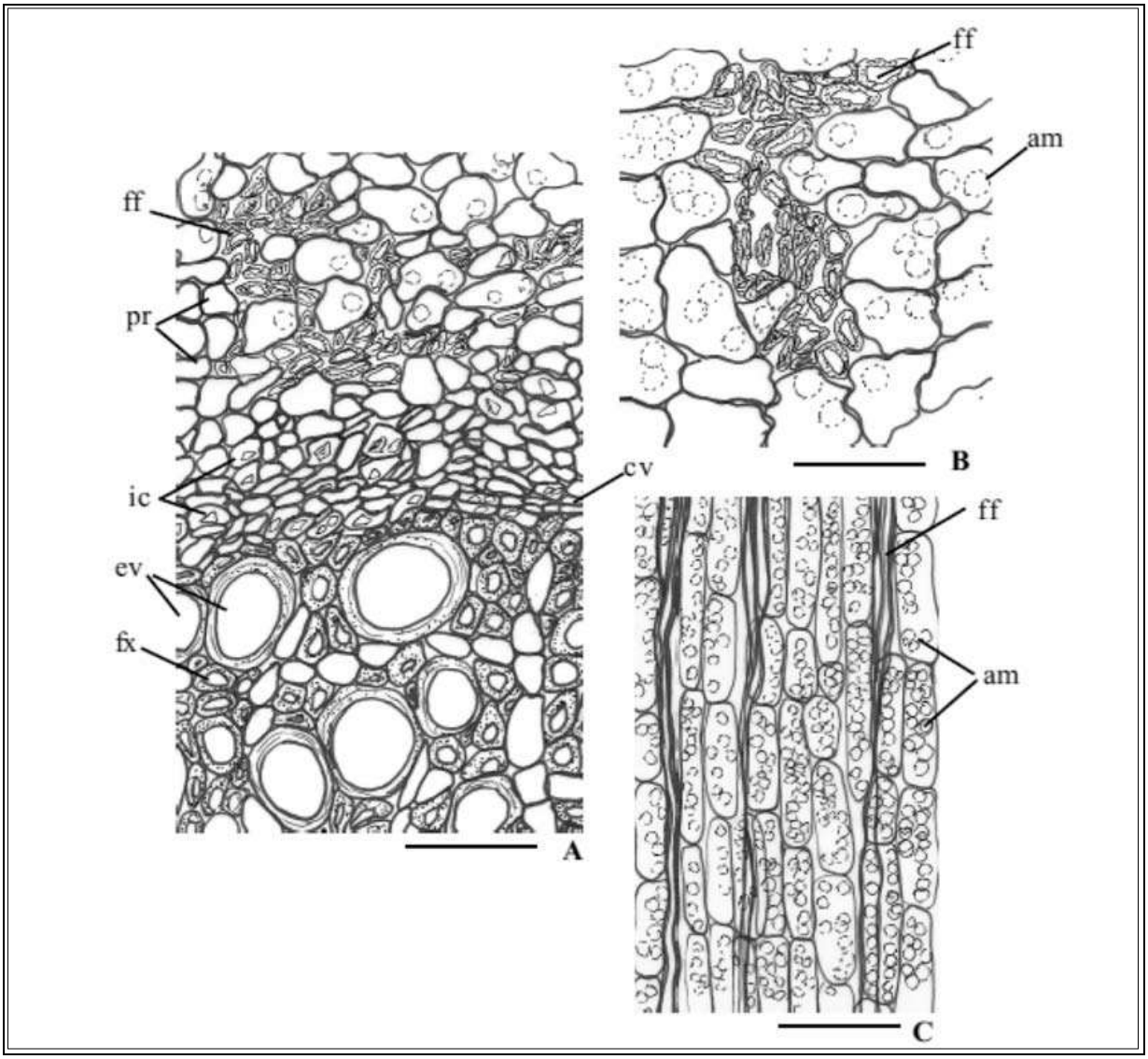


Figura 2 – Aspectos microscópicos *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson

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 adelgaçada 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 GF_{254}.

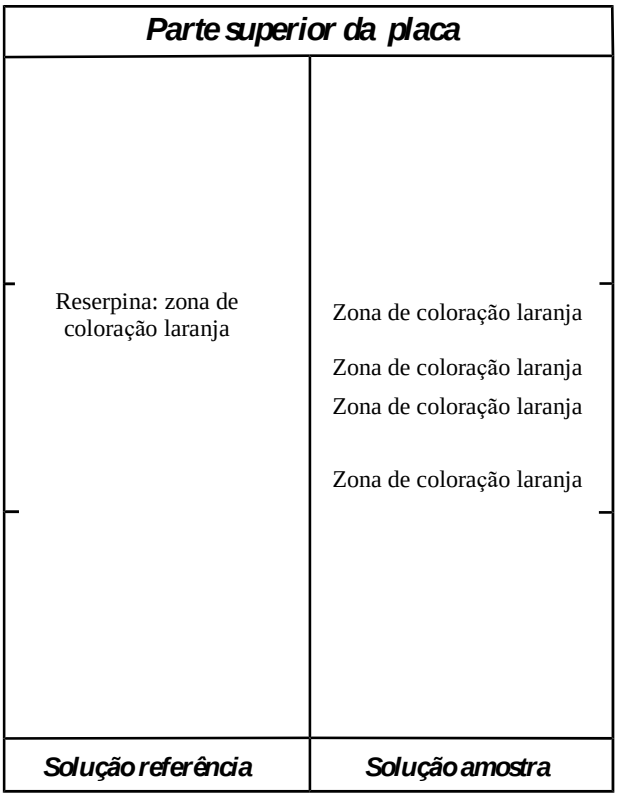
Fase móvel: álcool butílico, ácido acético e água (40:10:10).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução de referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca 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 subnitrato 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.



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:

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

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.

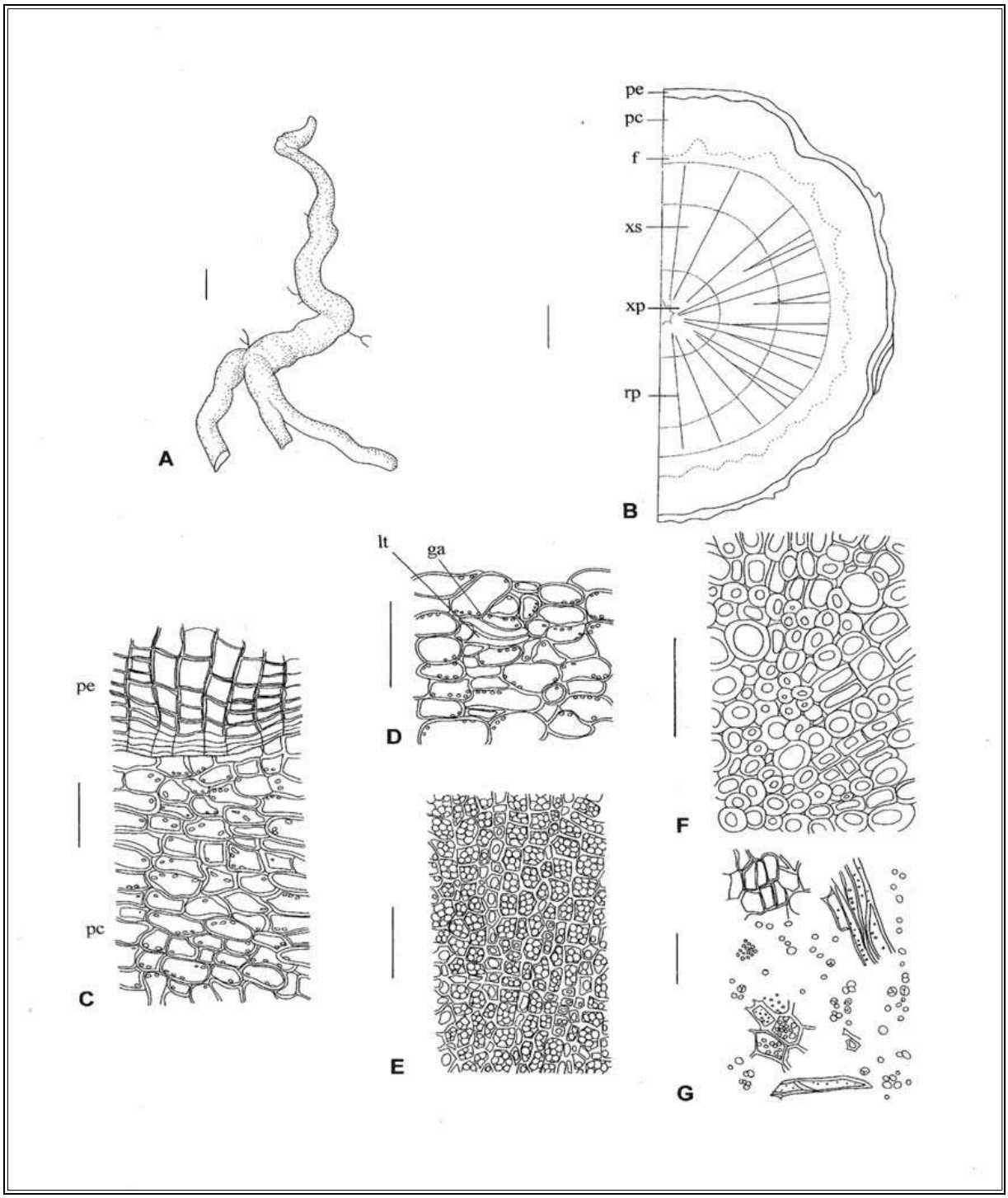


Figura 1 - **Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz**

_____

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).

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 ($C_{15}H_8O_6$, 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 continua 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 GF_{254} (0,250 mm).

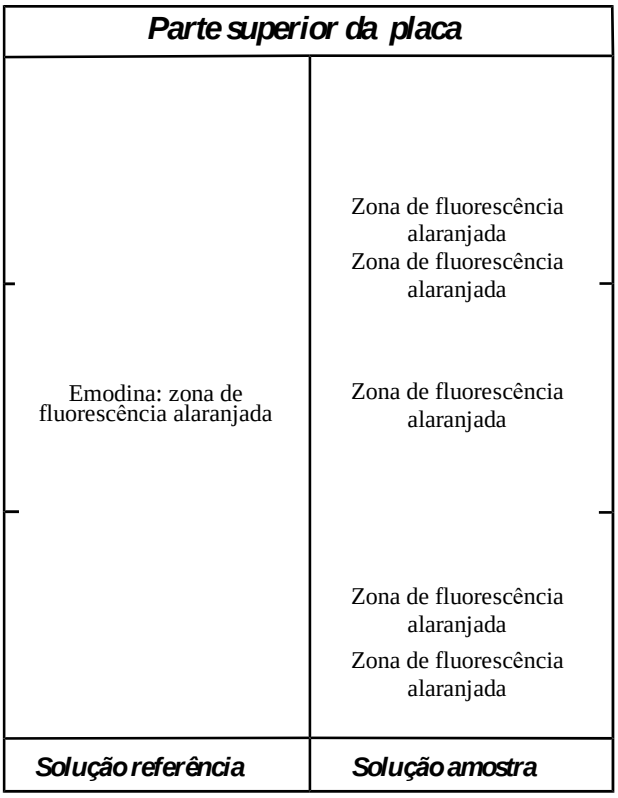
Fase móvel: éter de petróleo, acetato de etila e ácido fórmico anidro (75:25:1).

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 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. 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.



TESTES

Raponticina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**.

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254} (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 cromatoplaca 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 fosfomolíbdico 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 reína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TDHC} = \frac{\mathrm{A} \times 0{,}68}{m \times 440}$$

em que,

TDHC = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em reína % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
440 = coeficiente de absorção específica da reína;
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.

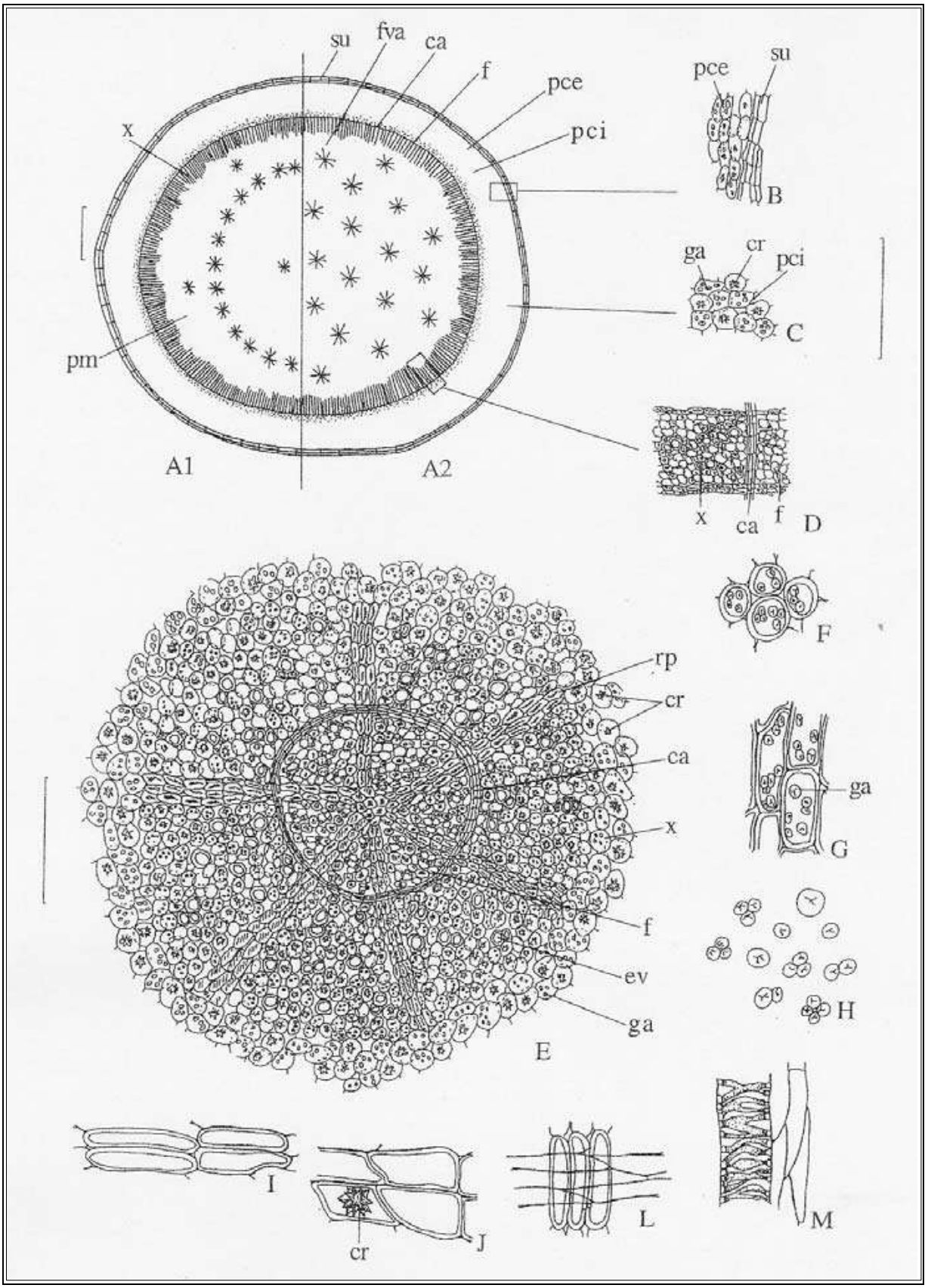


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Rheum palmatum* L. (A1) e *Rheum officinale* Baill. (A2)

_____

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. & Schltdl., 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 GF_{254} (0,250 mm).

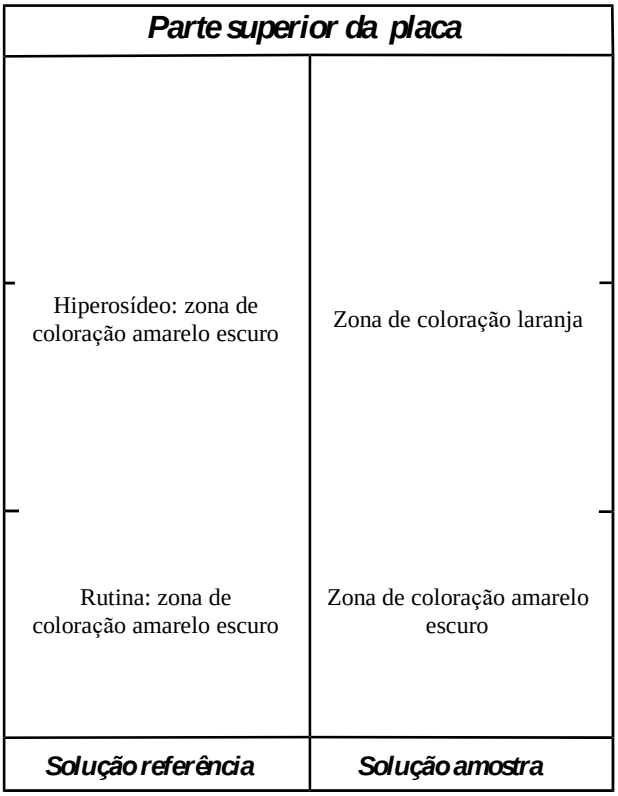
Fase móvel: acetato de etila, metiletilcetona, água, ácido fórmico anidro (50:30:10:10)

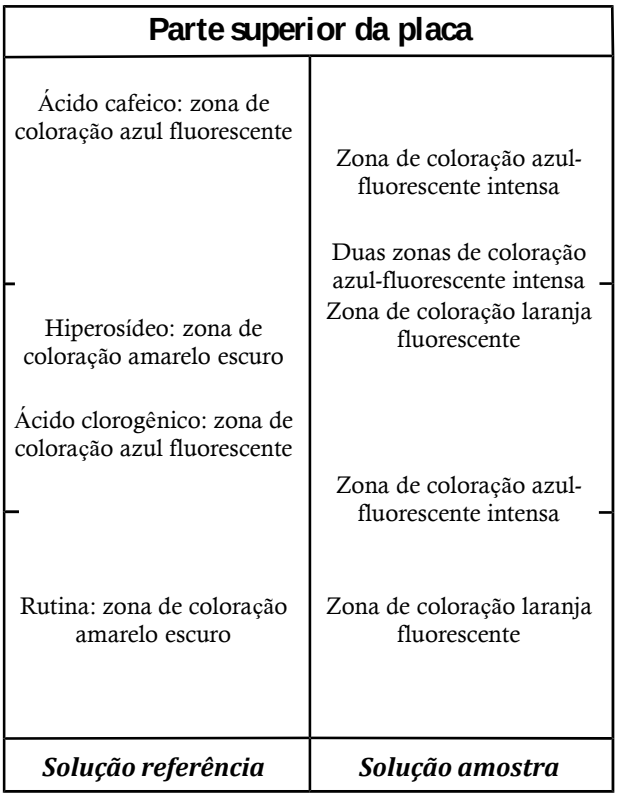
Solução amostra: transferir 0,5 g da amostra pulverizada (355 µm) **(5.2.11)** para um béquer e adicionar 5 mL de álcool metílico. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 × *g* por cinco minutos.

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.





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 rutina, 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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 15625}{m \times 500}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais, expressos em quercetina % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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 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.

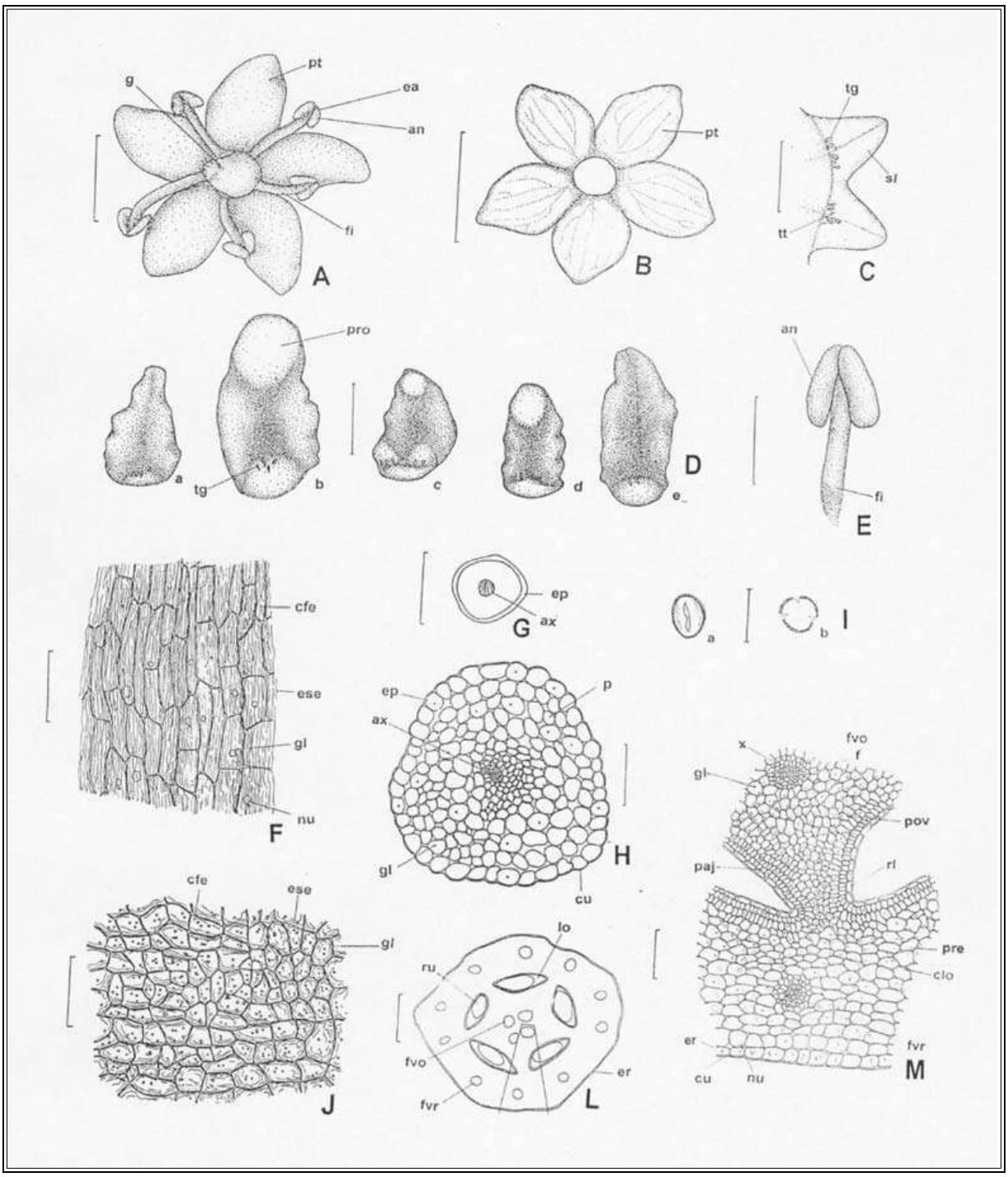


Figura 1 – **Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schltdl.**

_____

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); cloroplastídio (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).

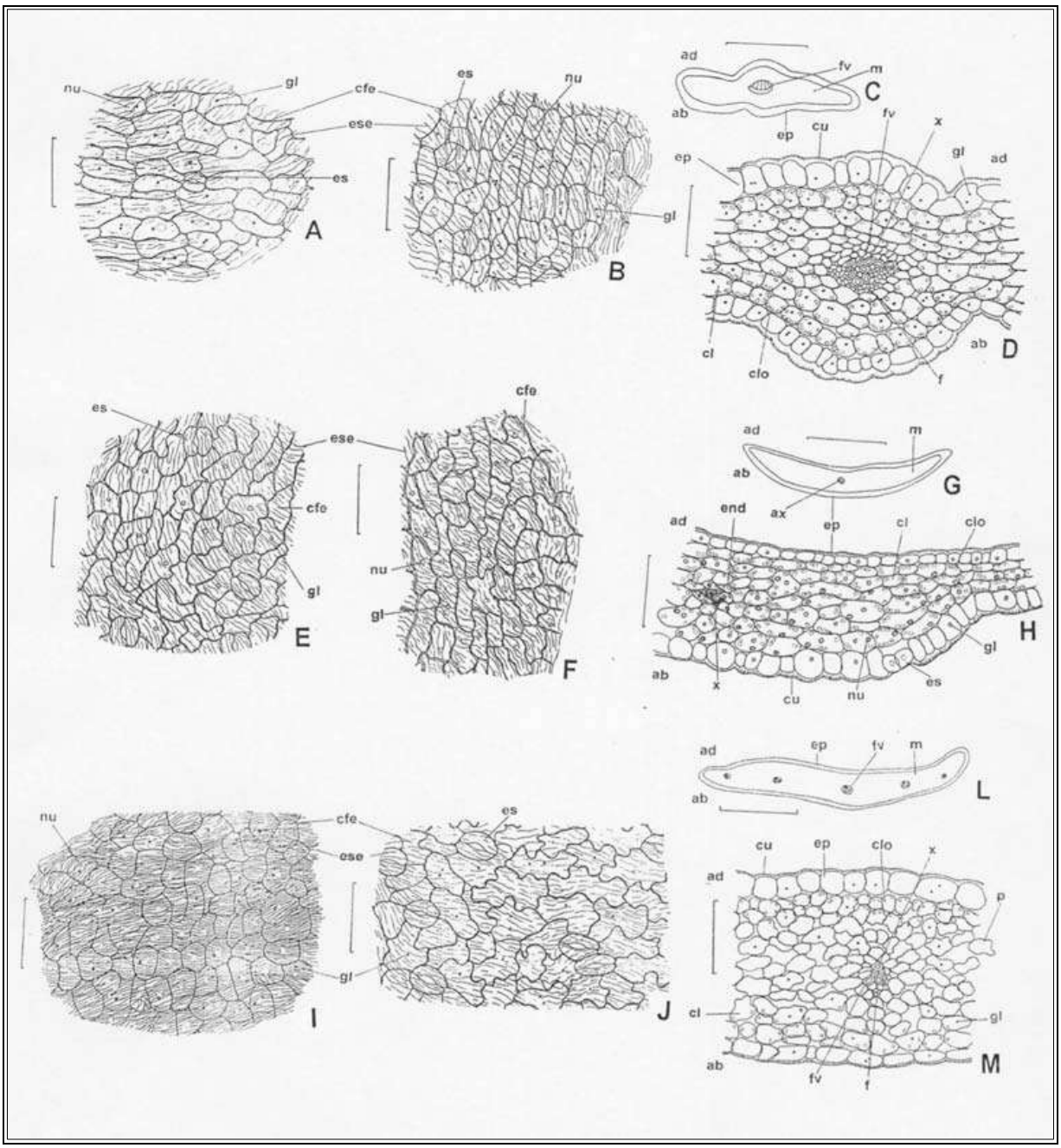


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schltdl.

_____

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).

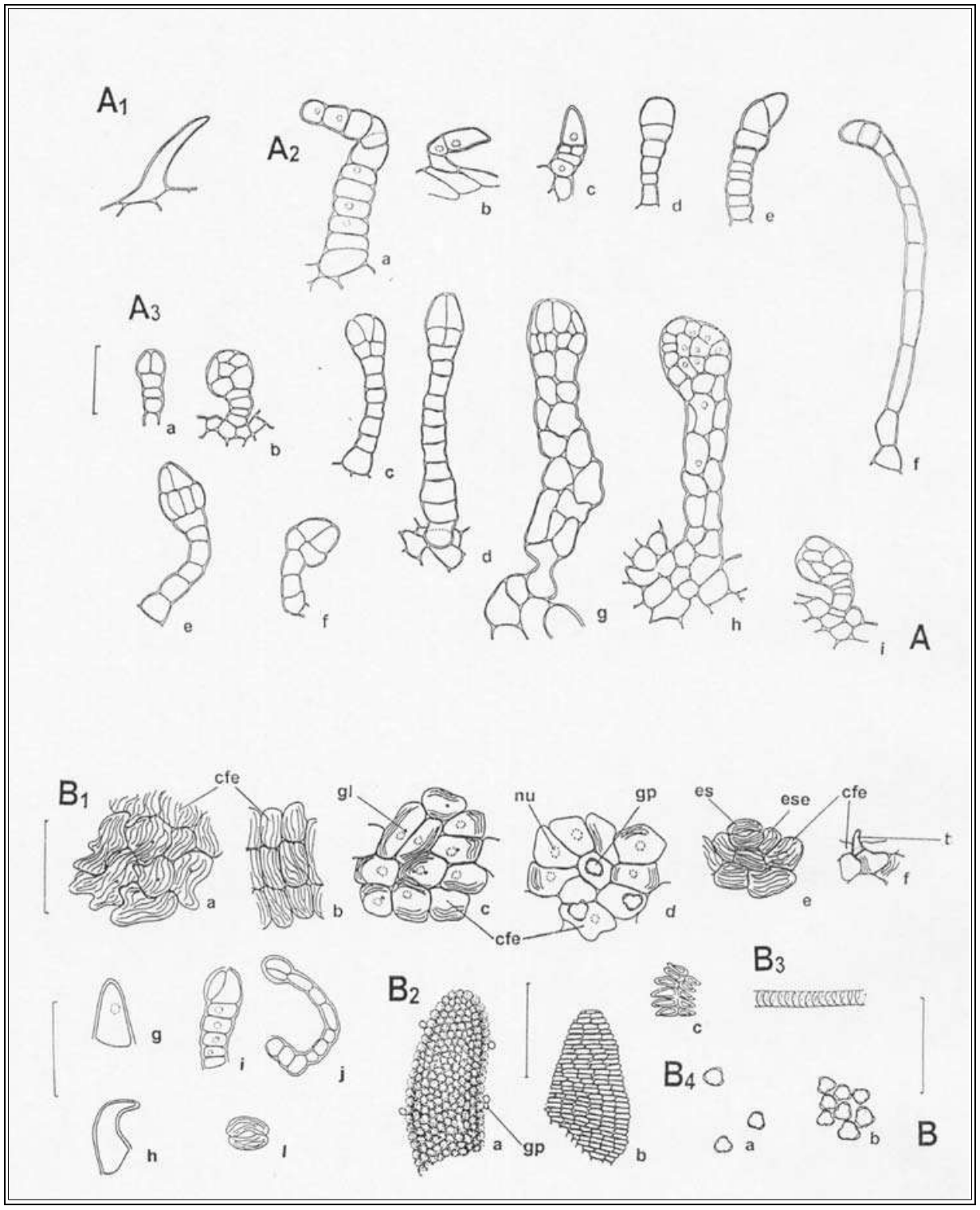


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schltdl.

As réguas 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 GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metiletilcetona, água, ácido fórmico anidro (50:30:10:10).

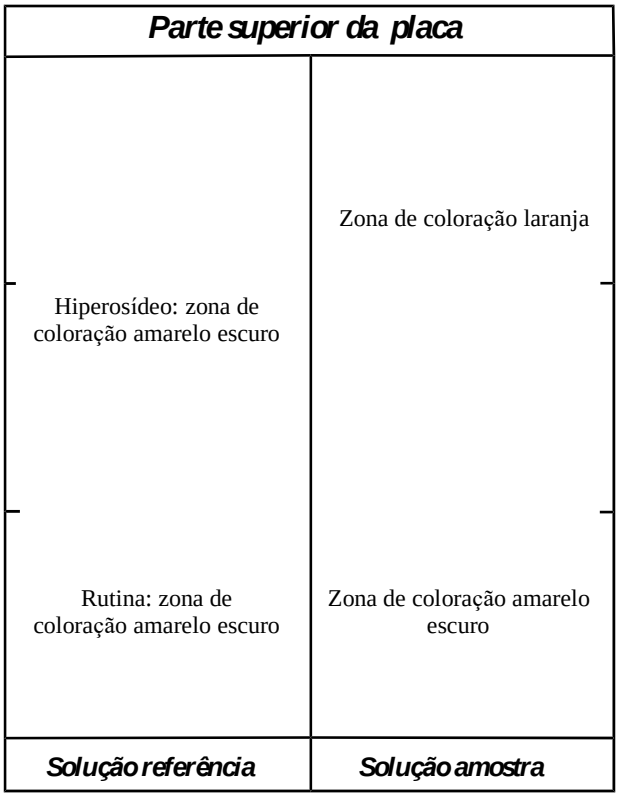
Solução amostra: transferir 0,5 g da amostra pulverizada (355 µm) **5.2.11)** para um béquer e adicionar 5 mL de álcool metílico. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 × *g* por cinco minutos.

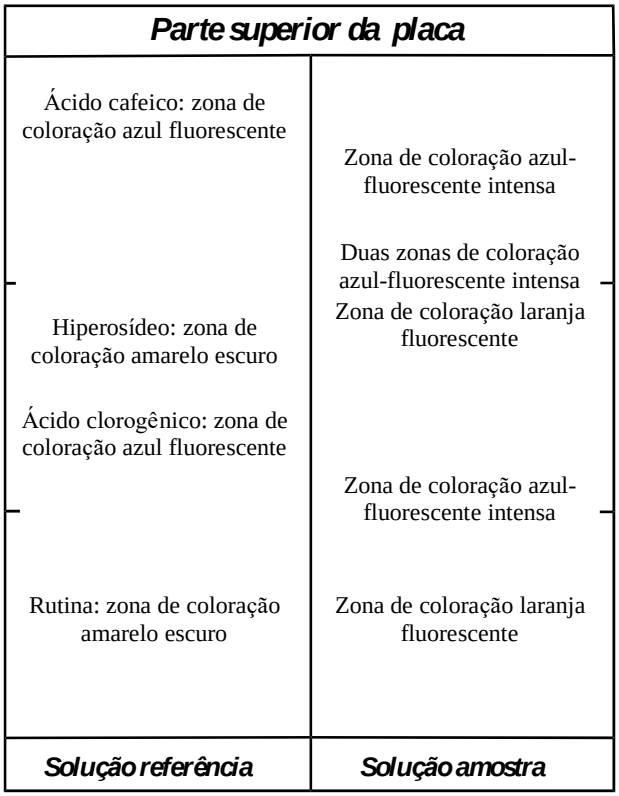
Solução referência: dissolver 1 mg de ácido cafeico, 1 mg de ácido clorogênico, 2,5 mg de hiperosídeo e 2,5 mg de rutina em 10 mL de álcool metílico.

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.





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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 15625}{m \times 500}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais, expressos em quercetina % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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.

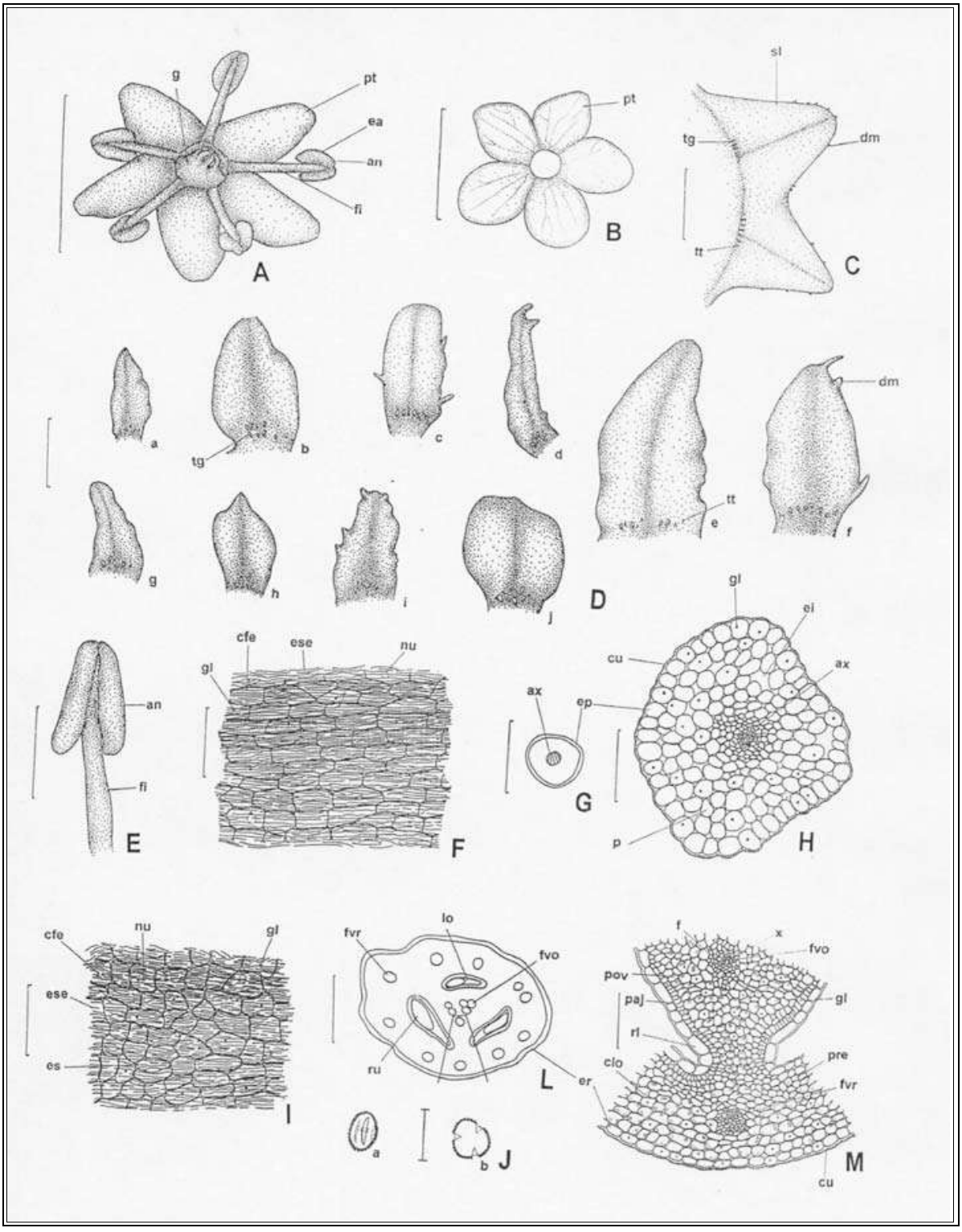


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As réguas 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).

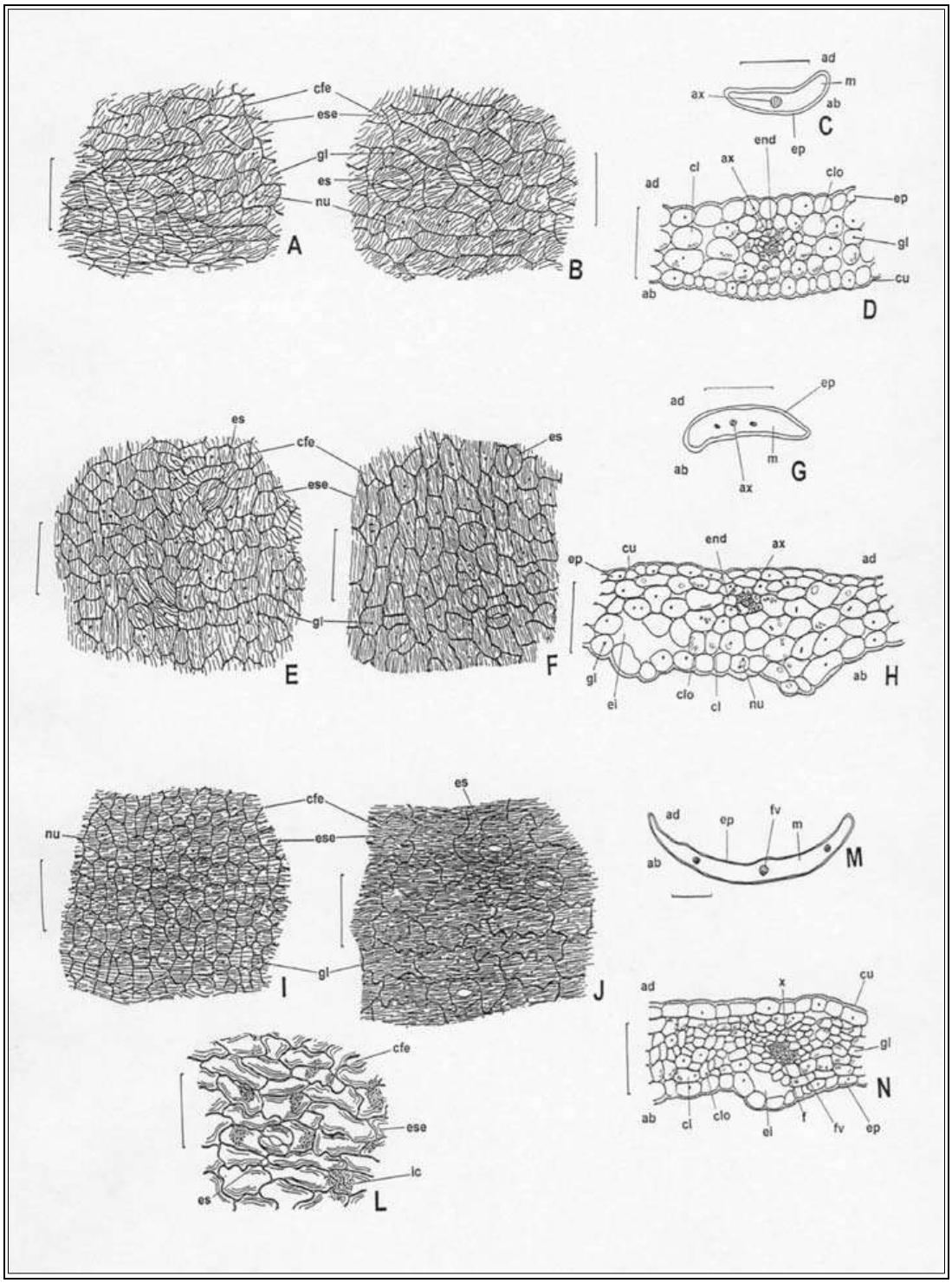


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

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).

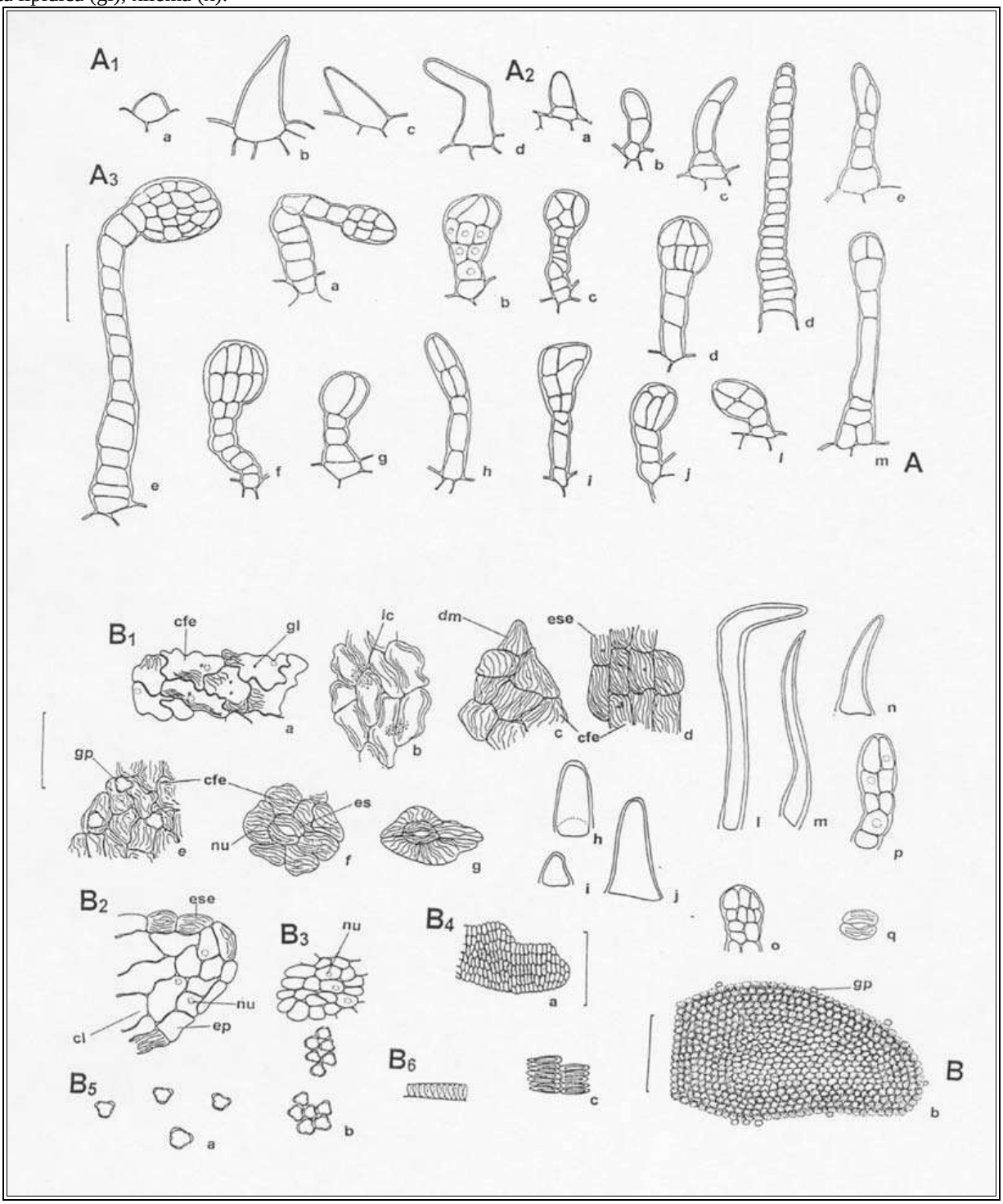


Figura 3 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As réguas 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; **A_1**. tricomas tectores unicelulares; **A_2**. tricomas tectores pluricelulares; **A_3**. Tricomas glandulares. **B** - detalhes do pó. **B_1**. (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; **B_2**. porção de bordo da pétala; epiderme (ep); estrias epicuticulares (ese); clorênquima (cl); núcleo (nu); **B_3**. fragmento de parênquima; núcleo (nu); **B_4**. fragmentos de antera; (a) porção côncava; (b) porção convexa; (c) fragmento da camada fibrosa da antera; grão de pólen (gp); **B_5**. grãos de pólen; (a) isolados; (b) agrupados; **B_6**. 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 ($C_{13}H_{18}O_7$, 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 GF_{254} (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e água (77:13:10).

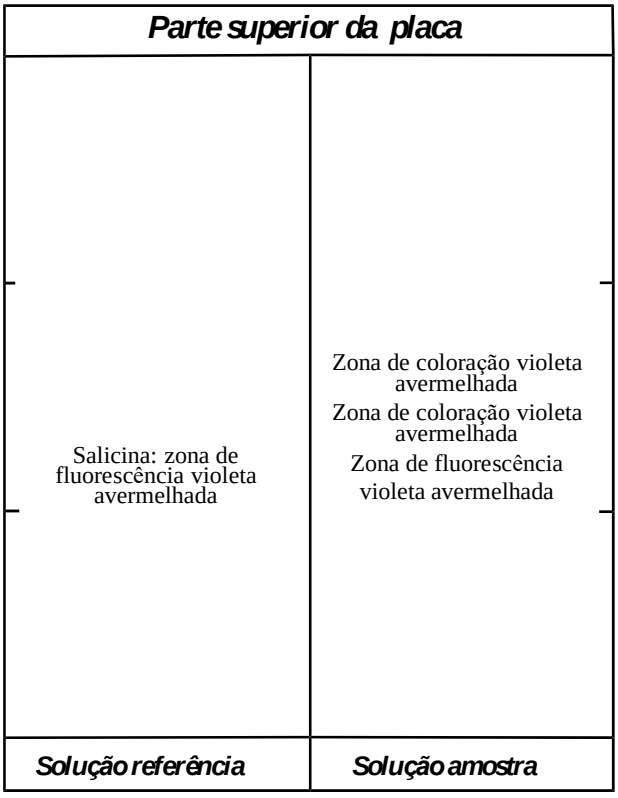
Solução amostra (1): aquecer 0,5 g da amostra pulverizada (500 µm) **(5.2.11)**, com 10 mL de álcool metílico, em banho-maria, sob refluxo, a aproximadamente, 50 °C por 10 minutos. Esfriar e filtrar.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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 ºC e 105 ºC, 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.



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

Em recipiente hermeticamente fechado, ao abrigo da luz e do calor.

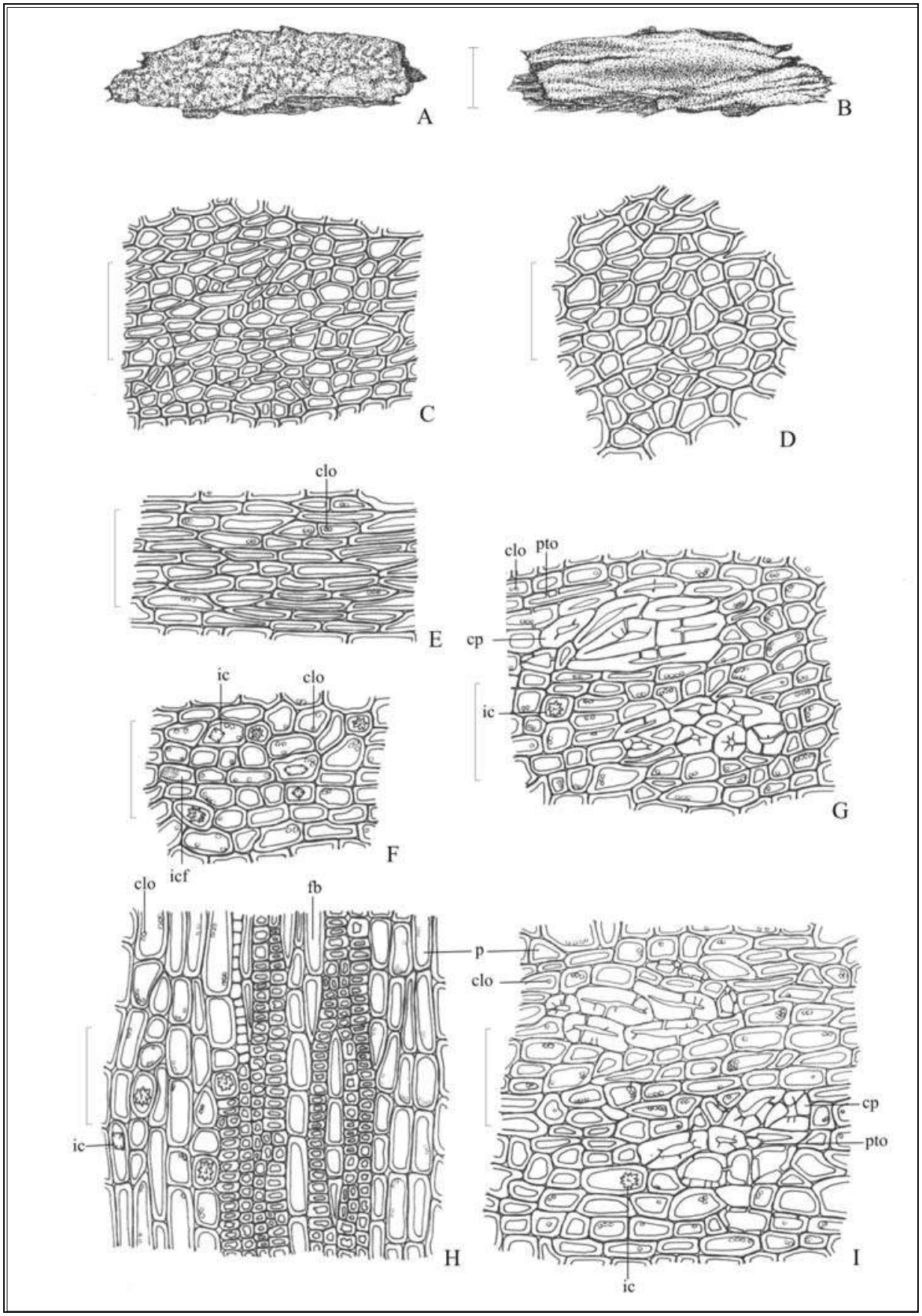


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Salix alba* L.

_____

As escalas correspondem em **A** e **B** a 5 mm, em **C** a **I** a 100 µm.

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).

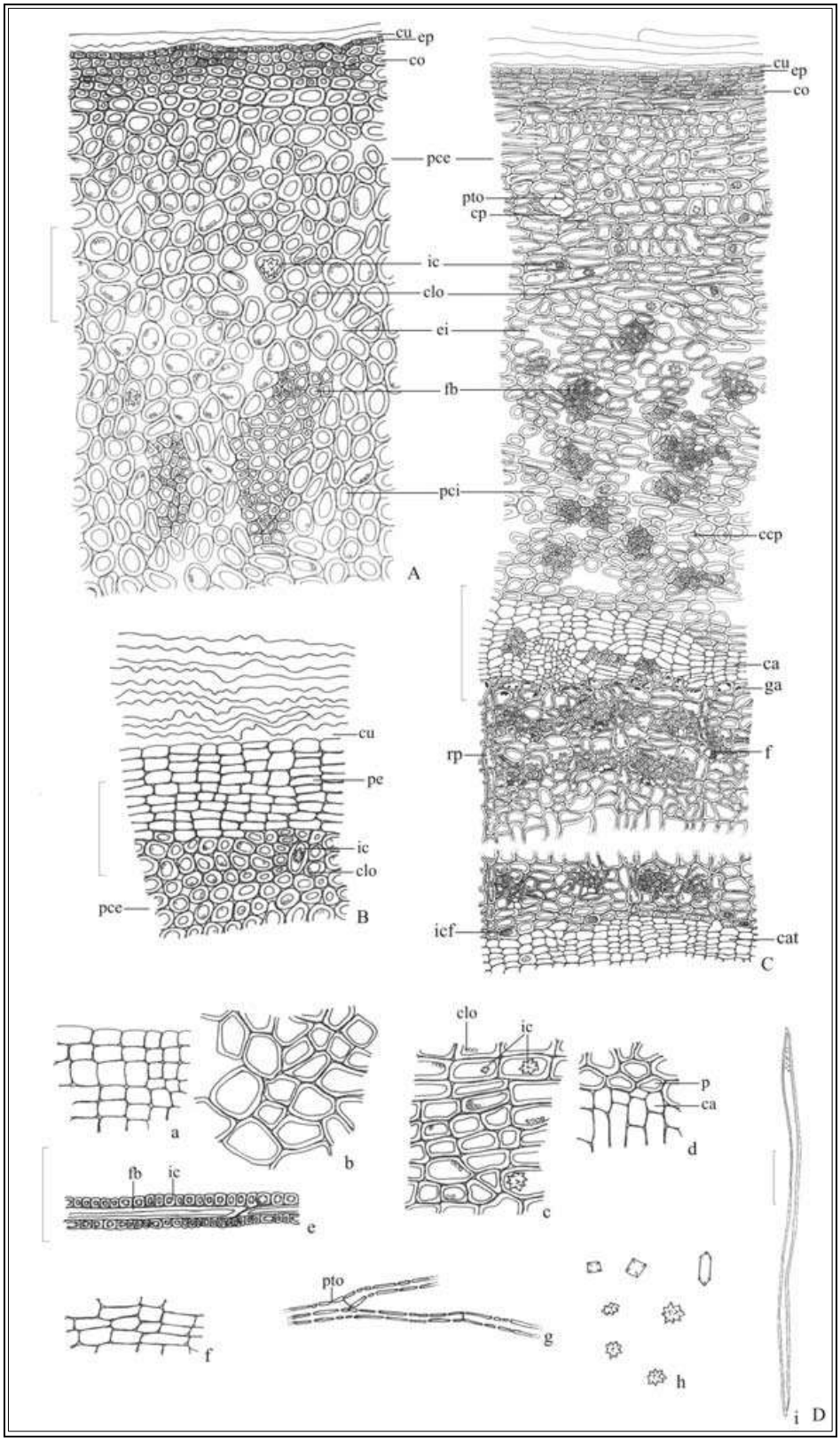


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Salix alba* L.

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 pétrea (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 parêquima 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 anticlinais 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 GF_{254} (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 cromatoplaca, 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.



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 × *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 µL 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:

$$\mathrm{TSB} = \frac{\mathrm{A} \times 0{,}781}{m \times 240}$$

em que,

TSB = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B % (p/p);
A = absorvância medida para a *Solução amostra*;
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 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,08).

Eluente (B): acetonitrila.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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 × *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.

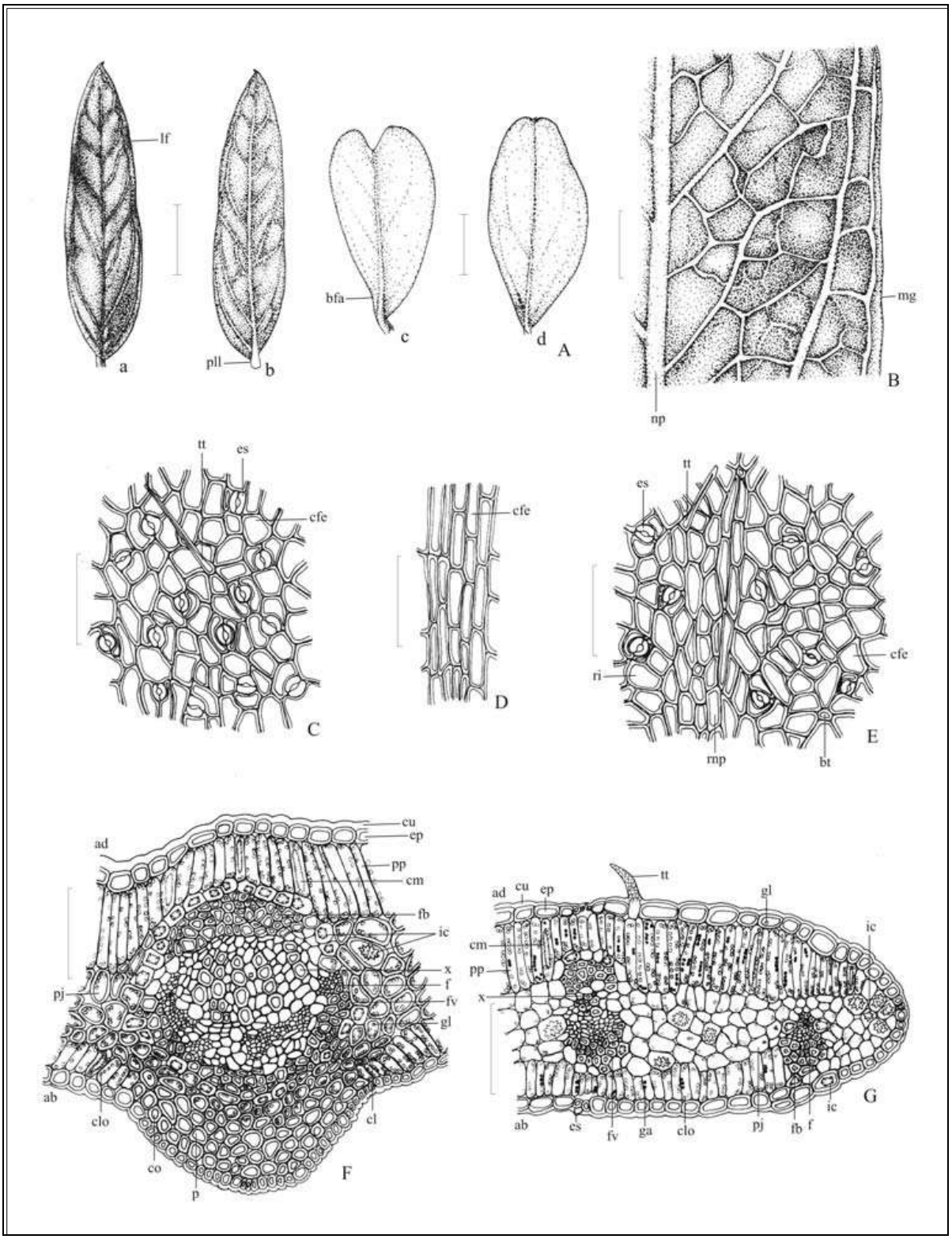


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

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 μm.
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: pecíolulo (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 (rnp); 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); cloroplastídio (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); cloroplastídio (clo); grão de amido (ga); feixe vascular (fv); estômato (es); face abaxial (ab); xilema (x); parênquima paliçádico (pp); célula contendo mucilagem (cm).

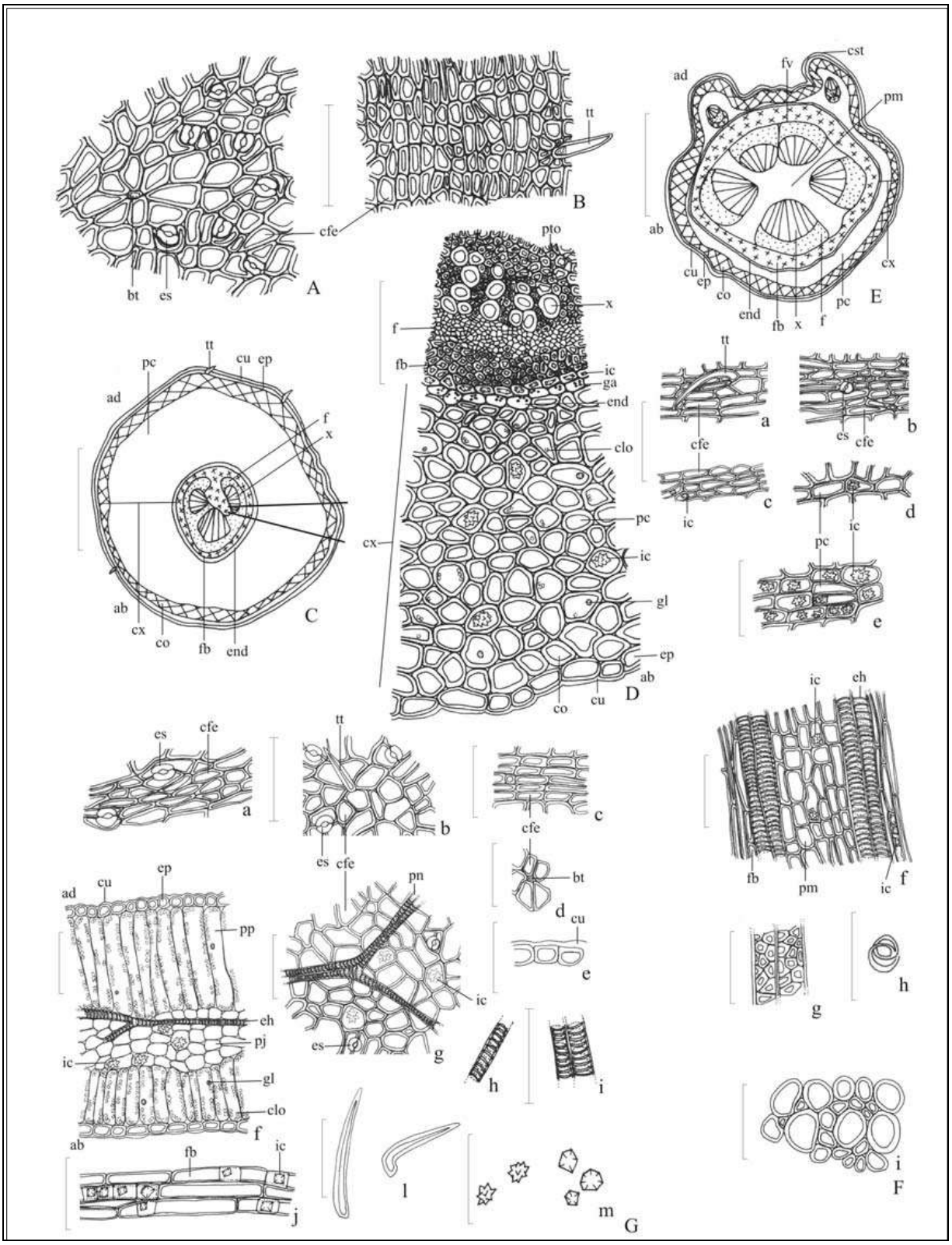


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

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**: pontoação (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 paliçádico (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 F_{254}, 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.



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 secura 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:

$$\mathrm{TDH} = \frac{\mathrm{A_a} \times 2{,}27}{m}$$

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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TS} = \frac{\mathrm{C}_a \times 20}{m \times 1000}$$

em que,

TS = teor de senosídeo A ou B (mg/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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

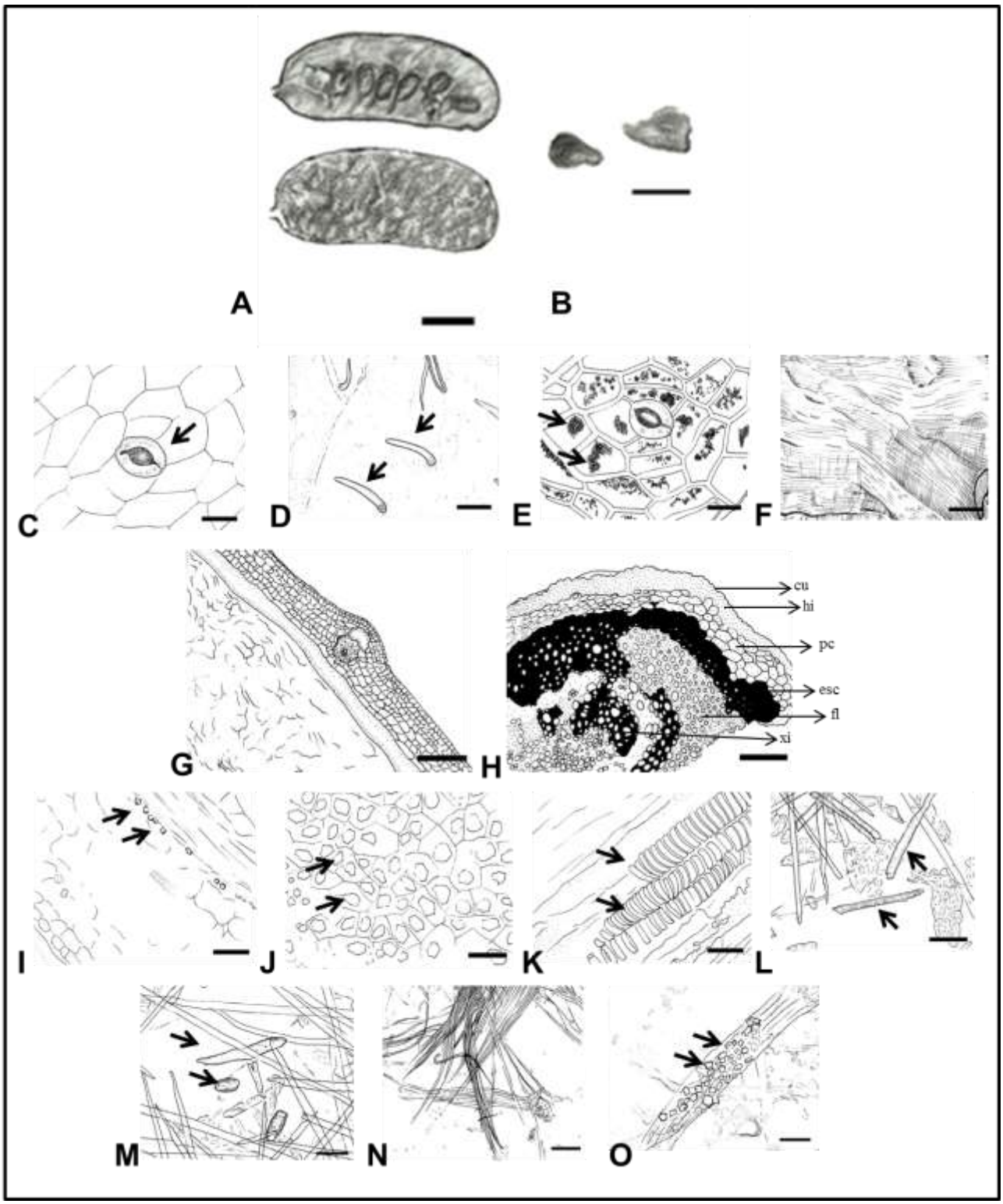


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

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 ($C_{12}H_{16}O_7$, 272,25).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas inteiras, coriáceas, rígidas e quebradiças, obovaladas, oblongo-espatuladas 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 hipoestomática, 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 anticlinais 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 braciformes, 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 GF_{254}.

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.

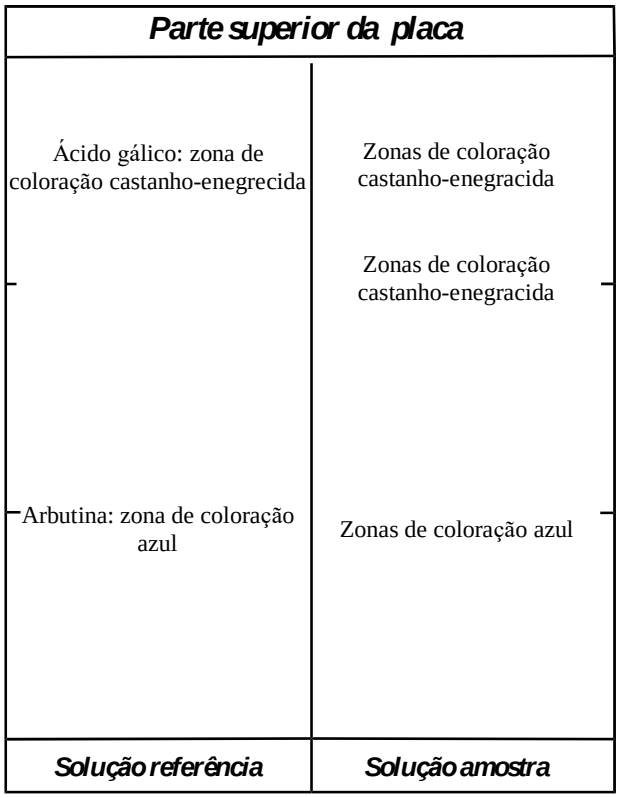
Solução referência (2): preparar uma solução a 2,5 mg/mL de arbutina em álcool metílico.

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.



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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

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.

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.

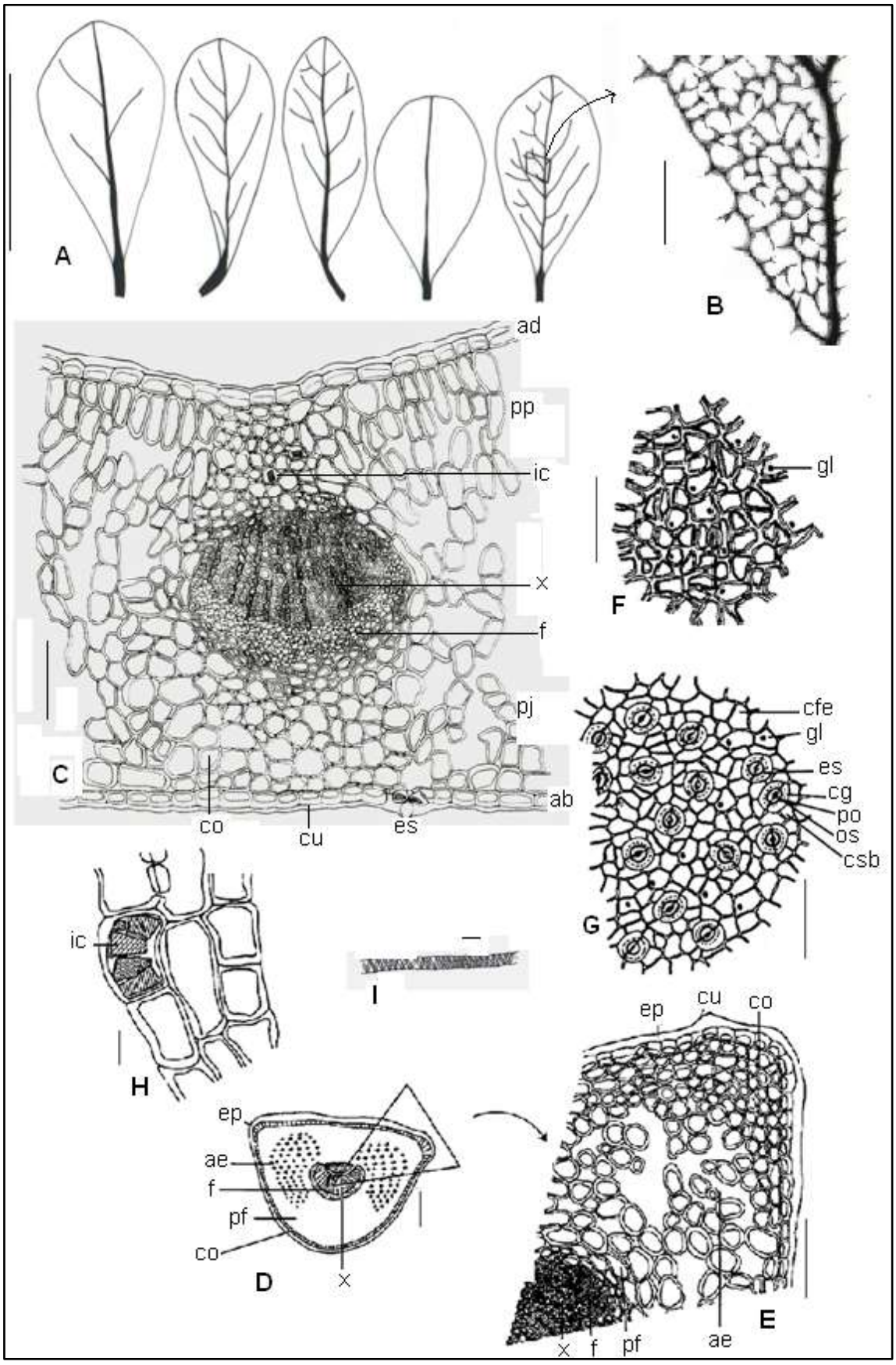


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.

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-espatulada 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 ($C_{15}H_{22}O_2$, 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 o 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 súber 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 súber 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 F_{254}.

Fase móvel: ciclohexano, acetato de etila e ácido acético glacial (60:38:2).

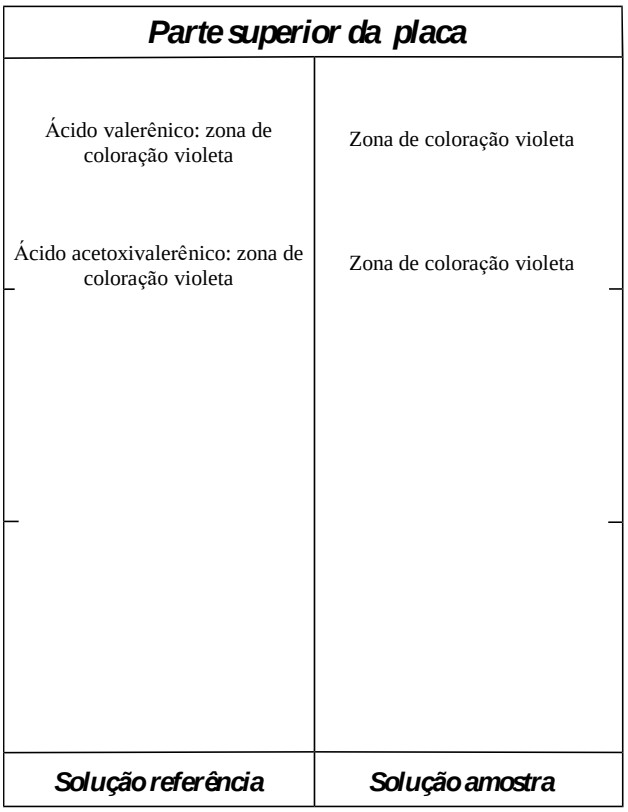
Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal e adicionar 10 mL de álcool metílico. Levar ao ultrassom durante 10 minutos. Filtrar. Secar o extrato em banho-maria até resíduo, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise 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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR, aquecer entre 100 ºC 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.



E. Transferir 0,2 g da droga para um tubo de ensaio e adicionar 5,0 mL de cloreto de metileno. Em seguida, agitar o tubo de ensaio por alguns minutos e deixar em repouso durante 5 minutos. Após, filtrar a solução e lavar o papel de filtro com 2,0 mL de cloreto de metileno. Secar o filtrado em

banho-maria até resíduo. Dissolver o resíduo em 0,2 mL de cloreto de metileno, transferir 0,1 mL dessa solução para outro tubo de ensaio e adicionar 3,0 mL de uma mistura de volumes equivalentes de ácido acético glacial e ácido clorídrico a 25% (v/v). Agitar o tubo de ensaio durante 1 minuto. Observar a formação de coloração azulada após 15 minutos. A formação dessa coloração indica a presença dos ácidos sesquiterpênicos.

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico*. No máximo 10,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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%.

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 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)

Tempo	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***

(minutos)			
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:

$$\mathrm{TAST} = \frac{\mathrm{C_r} \times (\mathrm{A_1} + \mathrm{A_2}) \times 10 \times 100}{\mathrm{A_r} \times m \times 100}$$

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

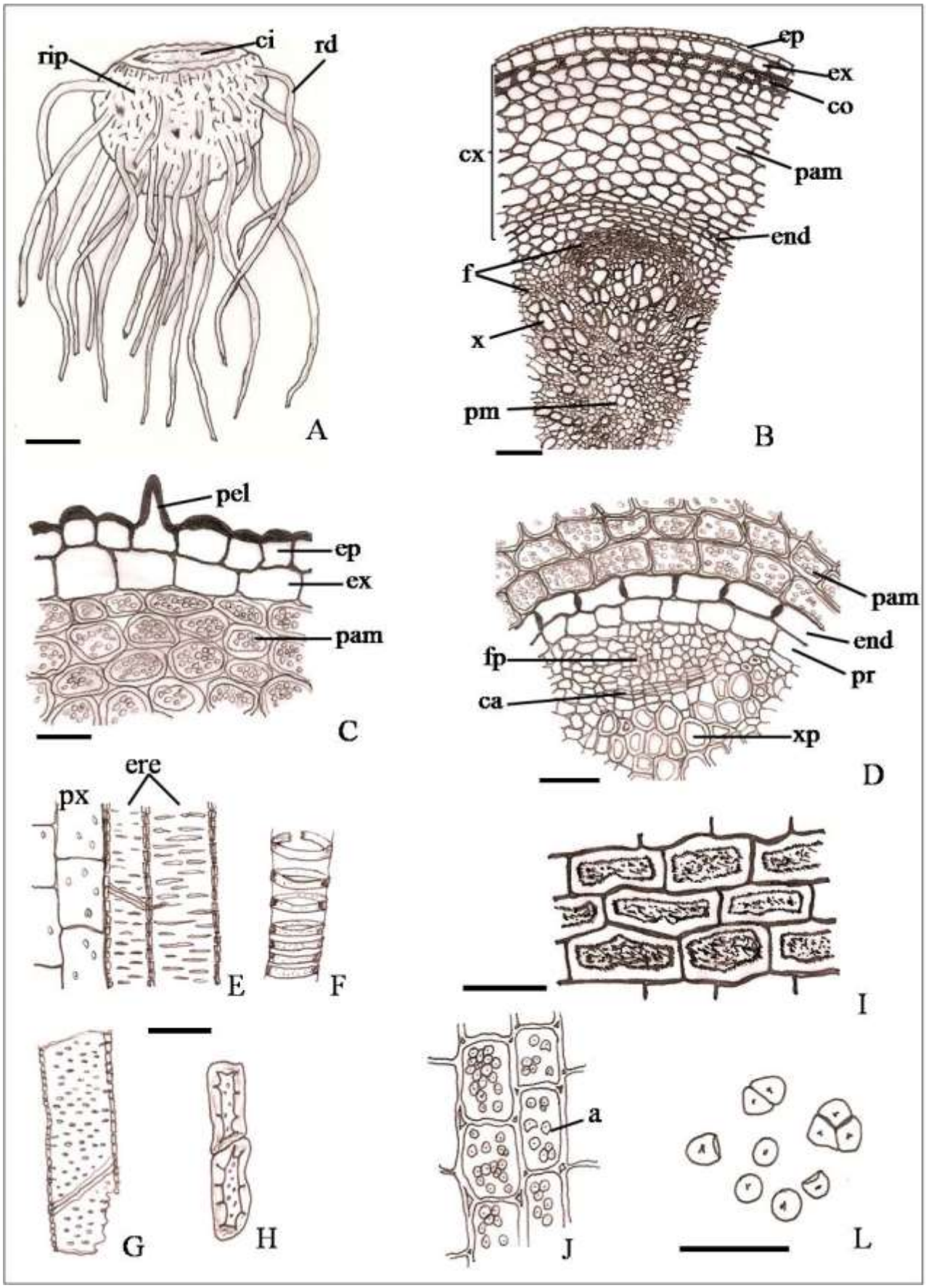


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Valeriana officinalis* L.

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 da parede anticlinal da endoderme (end); periciclo (pr); floema primário (fp); xilema primário (xp); câmbio vascular (ca). **E** a **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 ($C_{34}H_{47}NO_{11}$, 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 F_{254} (0,25 mm).

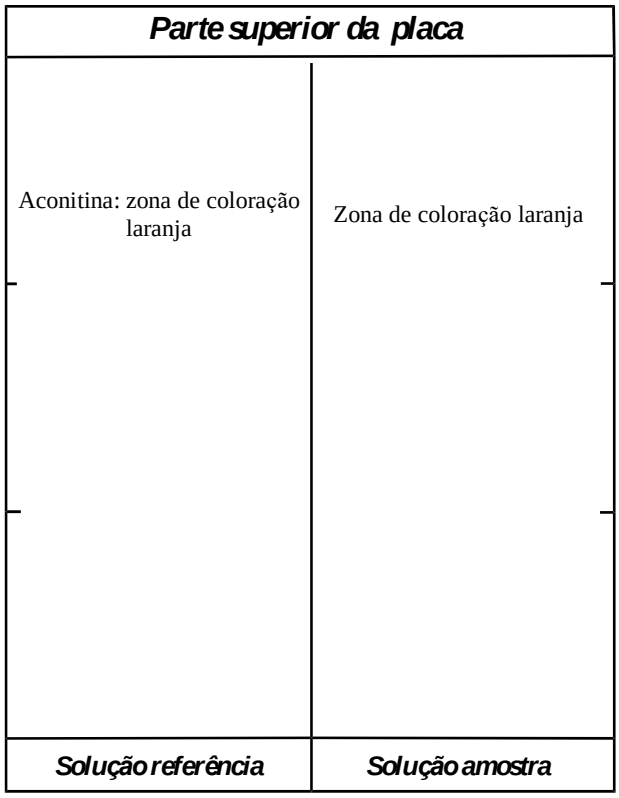
Fase móvel: tolueno, acetato de etila e dietilamina (35:10:5).

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 ºC 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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de iodeto de potássio e subnitrato 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.



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 ºC. 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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{V} \times 6{,}037 \times 0{,}1}{m}$$

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 ($C_{15}H_{14}O_6$, 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 F_{254} (0,25 mm).

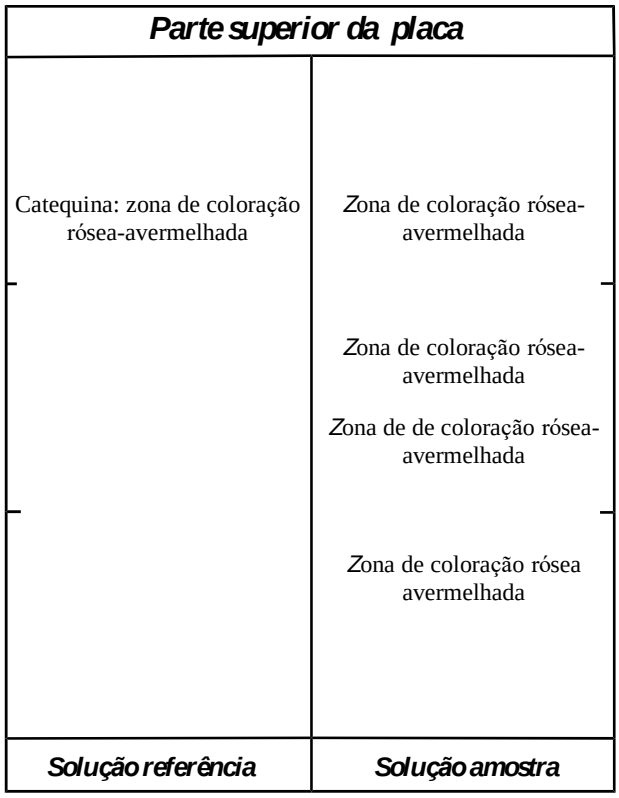
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

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.



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:

$$\mathrm{TT} = \frac{(\mathrm{A}_1 - \mathrm{A}_2) \times m_2 \times 62{,}5}{\mathrm{A}_3 \times m_1}$$

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 µm), 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***luição***
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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a}{\mathrm{A}_r \times m} \times 10 \times 100$$

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 ($C_{10}H_{12}O$, 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 GF_{254}.

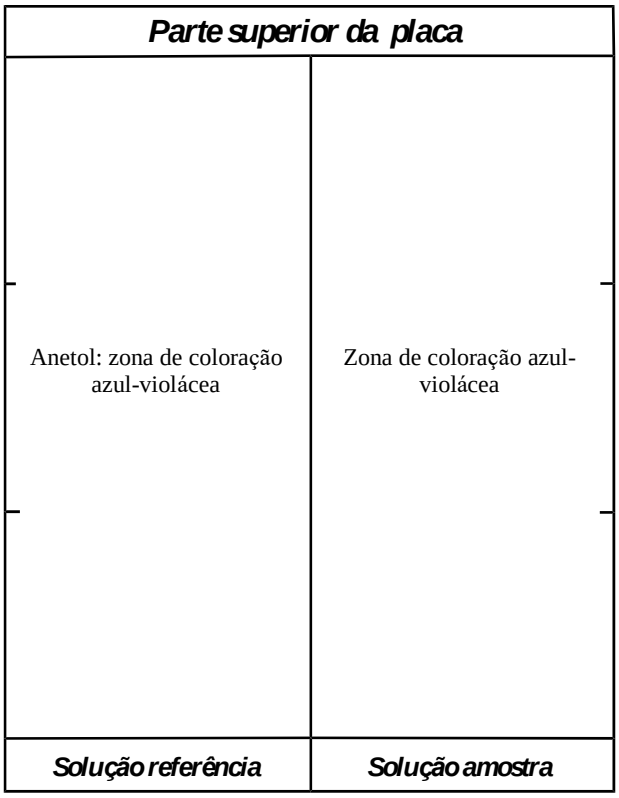
Fase móvel: mistura de hexano e tolueno (90:13).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 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 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.



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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 50 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 ($C_7H_6O_5$, 170,12) e 0,05% de catequina ($C_{15}H_{14}O_6$, 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 F_{254} (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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaca, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplacas 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.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração marron
Ácido gálico: zona de coloração azul acinzentada	Zona de coloração azul-acinzentada
Solução referência (1)	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
Solução referência (2)	***Solução amostra***

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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a}{\mathrm{A}_r \times m} \times 10 \times 100$$

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 tolutanum tinctura

A tintura é obtida a partir do oleorresina 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 ($C_9H_8O_2$, 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 GF_{254}.

Fase móvel: tolueno e éter de petróleo (95:5).

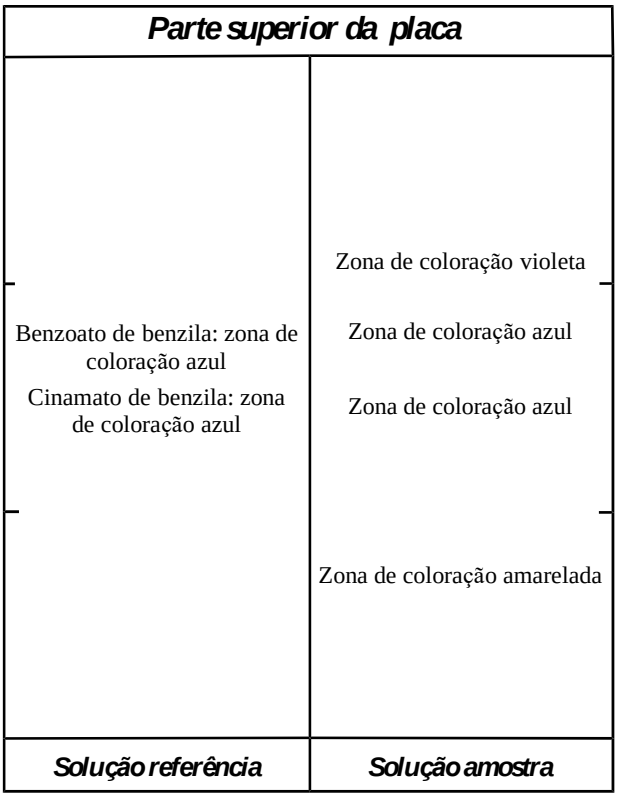
Solução amostra: diluir a tintura na proporção de 1:1 (v/v) em álcool etílico.

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.



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 ($C_9H_8O_2$).

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 ($C_8H_8O_3$, 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 F_{254}, (0,20 mm).

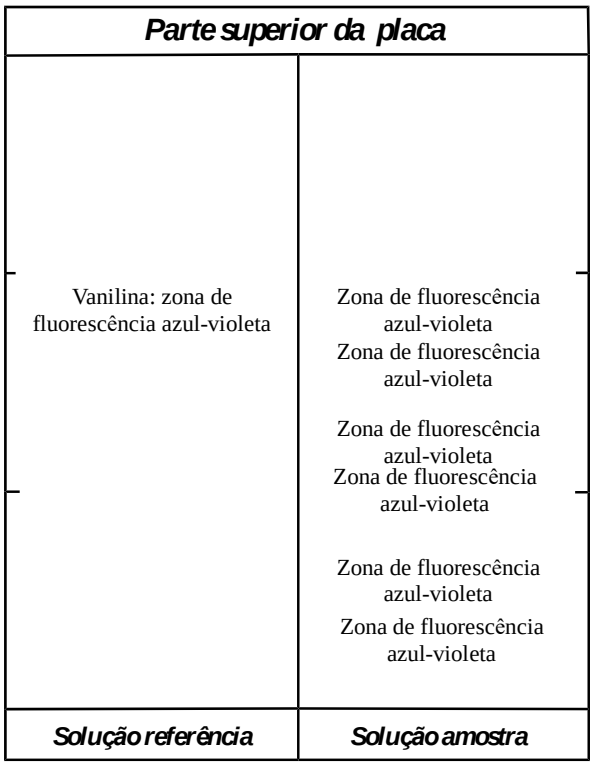
Fase móvel: ácido acético anidro, álcool metílico e cloreto de metileno (98,5:1:0,5).

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.



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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TV} = \frac{\mathrm{C}_r\mathrm{r} \times \mathrm{A}_a \times 5 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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.

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 ($C_7H_6O_2$, 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 GF_{254}.

Fase móvel: hexano, éter isopropílico e ácido acético glacial (3:1:0,5).

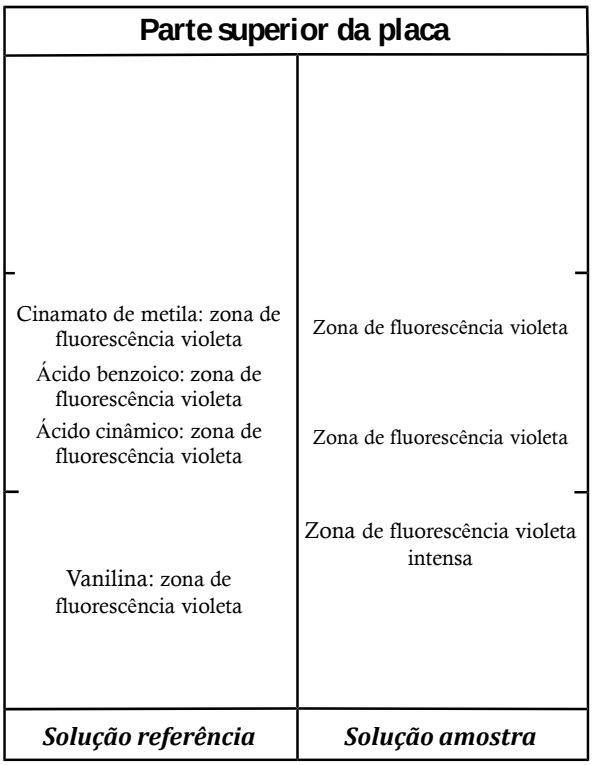
Solução amostra: diluir 50 µL da tintura em 950 µL de álcool etílico.

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 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. 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.



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.* 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 potenciometricamente. 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 ($C_7H_6O_2$).

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 GF_{254}.

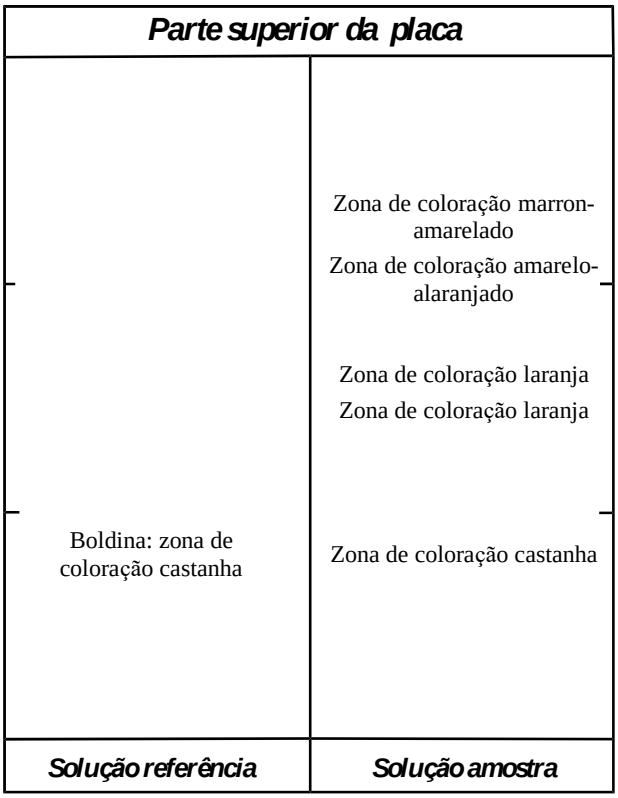
Fase móvel: tolueno, álcool metílico e dietilamina (80:10:10).

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.



TESTES

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool*. 60 ± 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:

$$TA = \frac{(\sum A\ ) \times m_r}{A_r}$$

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 ($C_{21}H_{20}O_{12}$, 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 estácionária sílica-gel F_{254} (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.

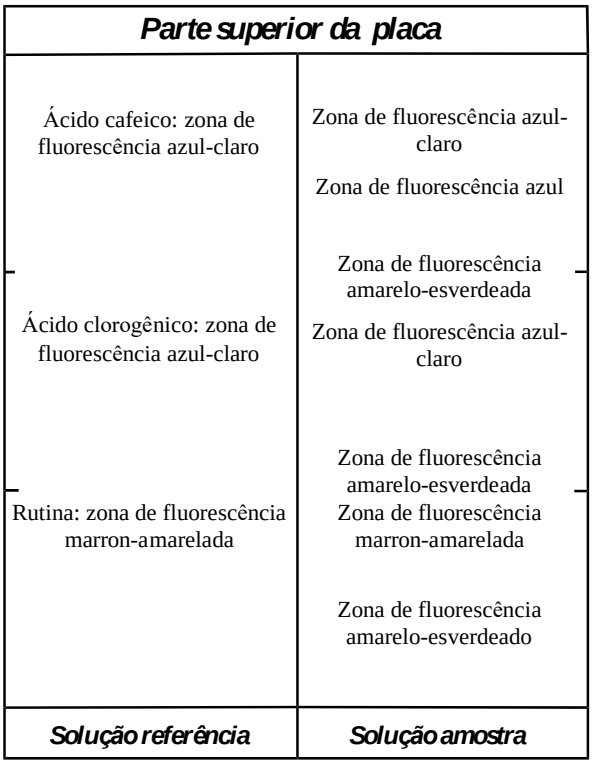
Solução referência (1): dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de rutina em álcool metílico, para obter a concentração de 250 µg/mL.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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.



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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 1{,}25}{m}$$

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 ($C_{21}H_{20}O_{10}$, 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 GF_{254}.

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 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 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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

Diluente: mistura do *Eluente (A)* e *Eluente (B)* (75:25).

Solução amostra: diluir 25 µL da tintura em 975 µL do *Diluente*. 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 *Diluente*. 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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r \times 0{,}0125}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

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.

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 F_{254} (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 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com solução de ácido fosfomolíbdico 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 fosfomolíbdico, na ordem. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
trans-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 *trans*-cinamico: zona de coloração azul-escuro	Zona de coloração azul de fraca intensidade Zona de coloração azul-escuro
trans-2-Metoxi-cinamaldeido: zona de coloração esverdeada fraca	Zona de coloração acastanhada 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*. 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:

$$\mathrm{TA} = \mathrm{C}_a \times \frac{25}{m}$$

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 ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 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 estácionária: sílica-gel F_{254} (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 cromatoplaca, 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.

Parte superior da placa	
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
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
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
Solução referência	***Solução amostra***

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 (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 (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 (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:

$$\mathrm{THAC} = \frac{\mathrm{A} \times 6{,}95}{m}$$

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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{A} \times 6{,}95}{m}$$

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 GF_{254}.

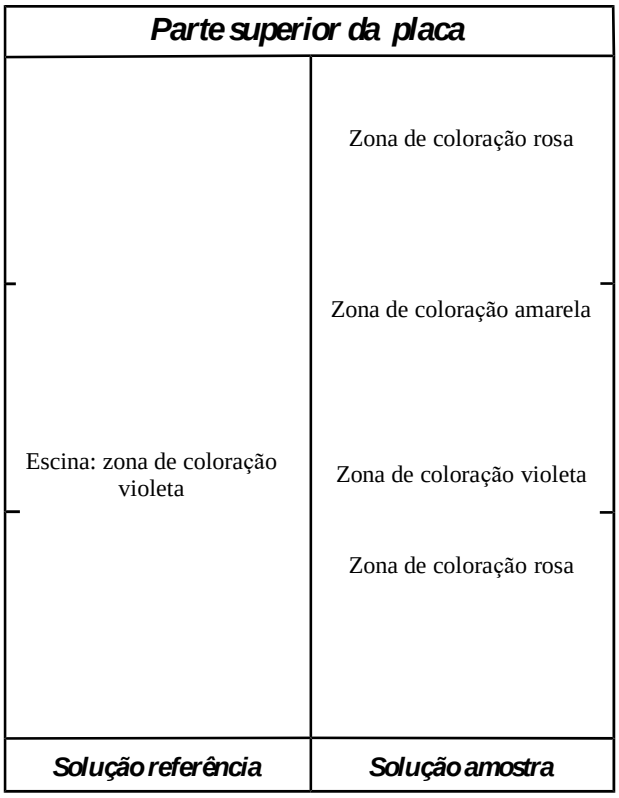
Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (50:10:40).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com anisaldeído SR, aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 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.



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 ºC. 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:

$$\mathrm{TE} = \frac{\mathrm{C} \times 50}{m \times 3}$$

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 ($C_{21}H_{20}O_6$, 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 GF_{254}.

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:

$$\mathrm{TC} = \frac{0{,}0426 \times \mathrm{A}}{m}$$

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 gentiopicrosídeo ($C_{16}H_{20}O_9$, 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 GF_{254}.

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 gentiopicrosídeo 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.

Parte superior da placa	
Amarogentina: zona de coloração castanho-enegracida	*Z*ona de coloração castanho-enegracida
Gentiopicrosídeo: zona de coloração castanho-enegracida	*Z*ona de coloração castanho -enegrecida
Solução referência	***Solução amostra***

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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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 gentiopicrosídeo 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 gentiopicrosídeo. O tempo de retenção médio é de aproximadamente nove minutos. Calcular o teor de gentiopicrosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TG} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 10 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

em que,

TG = teor de gentiopicrosídeo % (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 gentiopicrosídeo na *Solução referência*;
A_a = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo 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
Paulliniae 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 ($C_8H_{10}N_4O_2$, 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 GF_{254}.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (70:30:5).

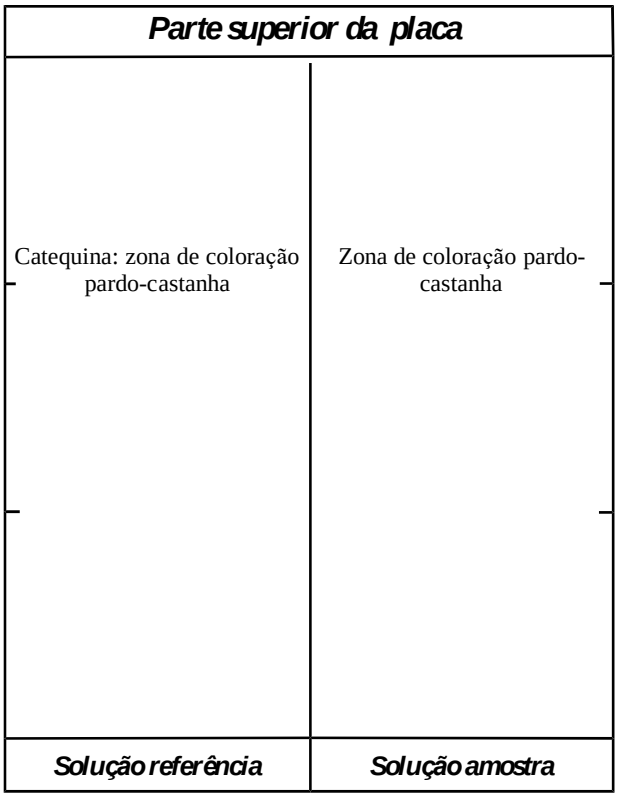
Solução amostra: tintura de guaraná.

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 ºC 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.



Caracterização da presença de metilxantinas

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**.

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

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).

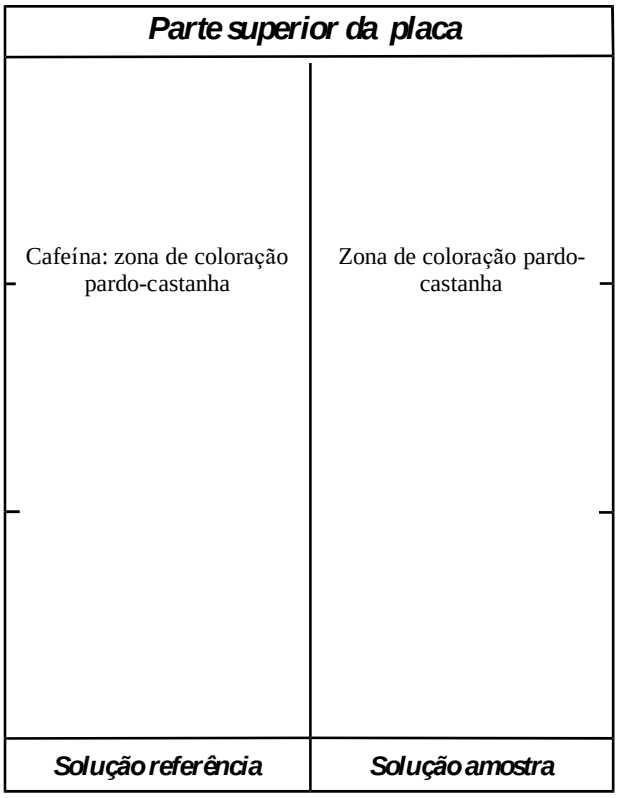
Solução referência: solução a 100 µg/mL de cafeína em álcool metílico.

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 a10 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 solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em álcool etílico e, a segui, 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.



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*. 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 C*romatografia 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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 10 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 ($C_6H_6O_3$, 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 F_{254} (0,25 mm).

Fase móvel acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (60:20:15:15).

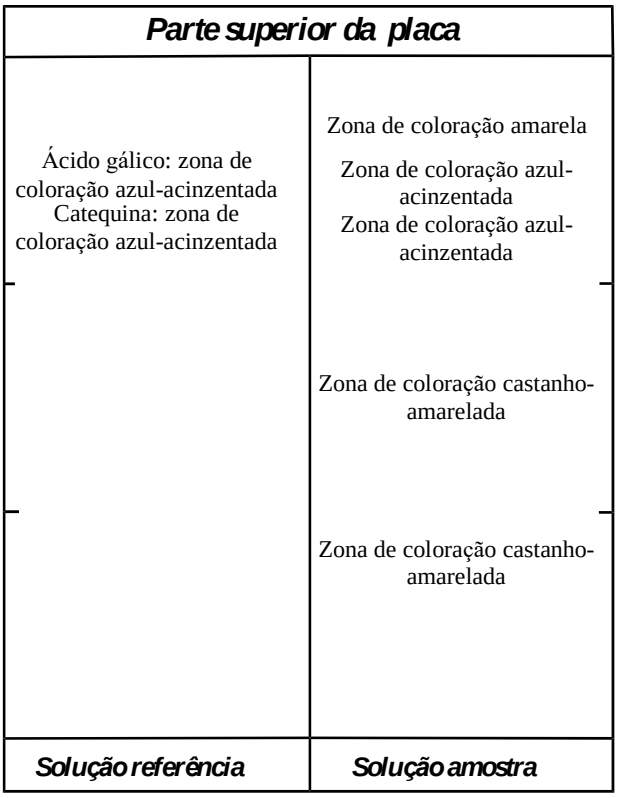
Solução amostra: reduzir 5 mL da tintura de hamamelis a resíduo seco em banho-maria. Retomar o resíduo em 10,0 mL de água. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 10 mL de acetato de etila em funil de separação de 125 mL. Deixar em repouso em freezer a -18 °C por 15 minutos, para total separação 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.



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:

$$\mathrm{TT} = \frac{(\mathrm{A}_1 - \mathrm{A}_2) \times m_2 \times\ 62{,}5}{\mathrm{A}_3 \times m_1}$$

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 ($C_{11}H_{16}N_2O_2$, 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 arroxeado 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 GF_{254} (0,25 mm).

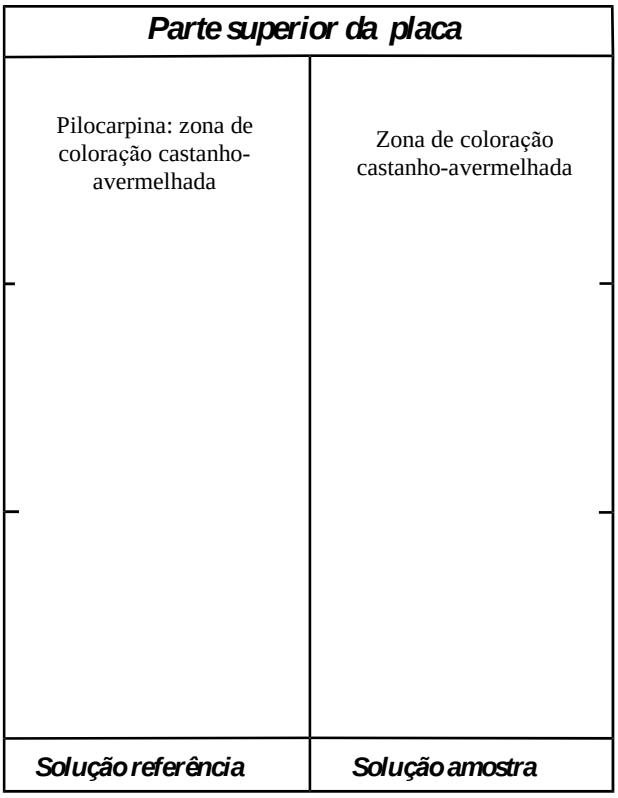
Fase móvel: cloreto de metileno, álcool metílico e hidróxido de amônio (85:14:1).

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.



TESTES

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Método por destilação, Líquidos com mais de 30% de álcool*. (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:

$$\mathrm{AT} = \frac{(V_{ácido} - \mathrm{v}) \times 0{,}4166}{m}$$

em que,

AT = alcaloides totais expressos em pilocarpina % (p/p);
$V_{ácido}$ = 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 ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 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 G_{60}.

Fase móvel: acetato de etila, água e ácido fórmico (75:15:10).

Solução amostra: tintura de laranja amarga.

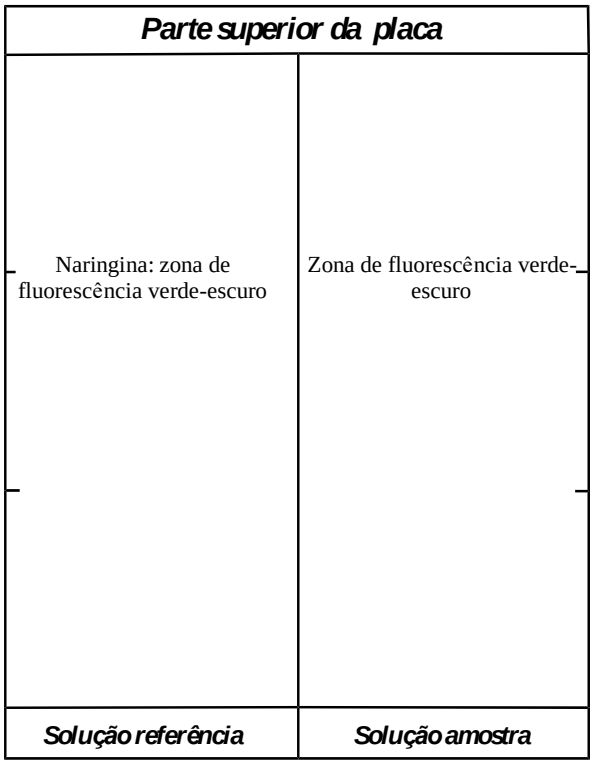
Solução referência: preparar uma solução a 10 mg/mL de naringina em álcool metílico.

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.



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

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TN} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 5 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 n a *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 ($C_{21}H_{22}N_2O_2$, 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 F_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (70:20:10).

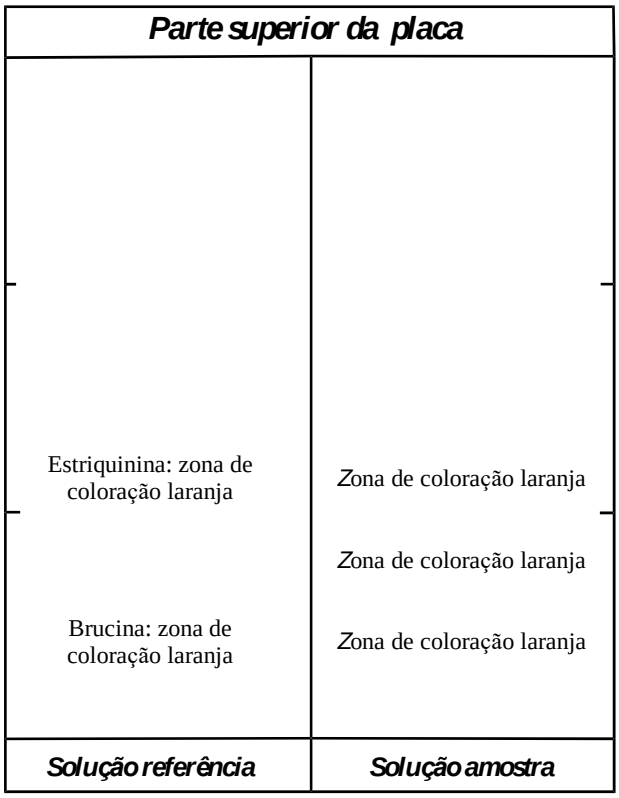
Solução amostra: secar 1,0 mL da tintura até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL álcool metílico, filtrar em unidade filtrante de 0,45 μm e proceder à análise cromatográfica.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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 subnitrato de bismuto SR. Remover a cromatoplaca 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.



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:

$$\mathrm{TE} = \frac{\mathrm{A}_a \times \mathrm{C}_r}{\mathrm{A}_r \times \mathrm{C}_a}$$

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 mg/mL, considerando a pureza da substância de referência;
C_a = concentração da droga vegetal na *Solução amostra* em mg/mL.

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 ($C_6H_6O_3$,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 F_{254} (0,250 mm).

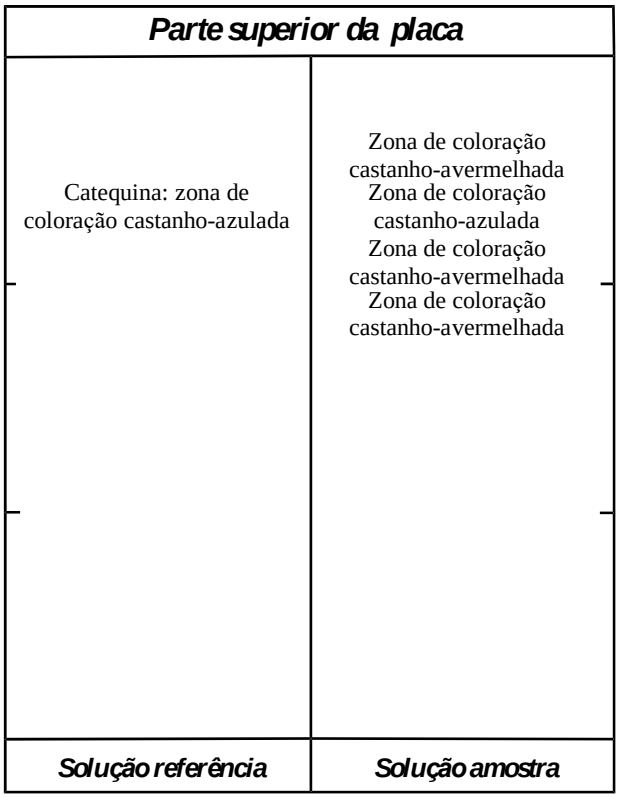
Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (60:20:15:15).

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 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. 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.



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 ($C_{15}H_{22}O_2$, 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 F_{254}.

Fase móvel: ciclohexano, acetato de etila e ácido acético glacial (60:38:2).

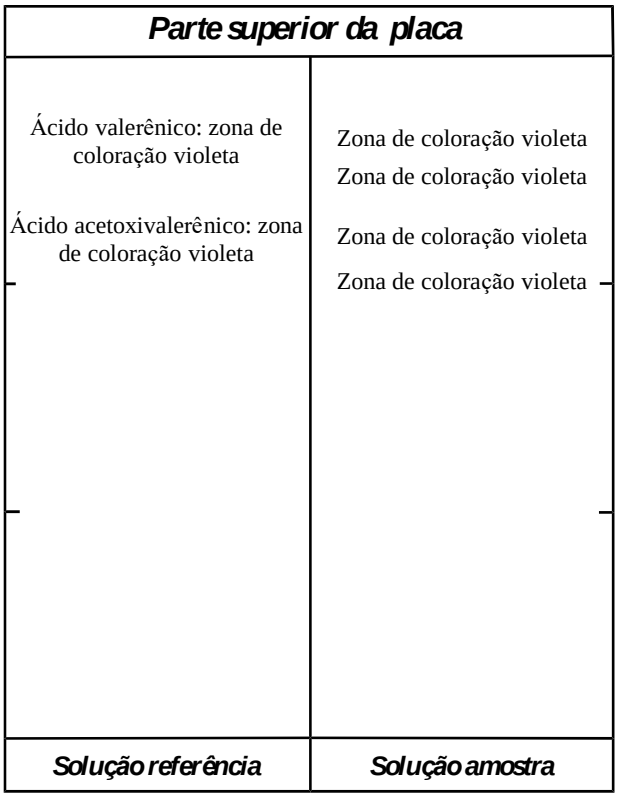
Solução amostra: medir 1 mL de tintura e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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.



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*. 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TAST} = \frac{\mathrm{C_r} \times (\mathrm{A_1} + \mathrm{A_2}) \times 2 \times 100}{\mathrm{A_r} \times m \times 100}$$

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;
2 = fator de diluição.

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 ($C_{16}H_{18}O_9$, 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 GF_{254} (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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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 ºC 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.

Parte superior da placa		
		Zona de fluorescência azul
	Luteolina-7-*O*-glicosídeo: zona de fluorescência amarelada	Zona de fluorescência amarelada
Ácido clorogênico: zona de fluorencência azul		Zona de fluorescência azul
		Zona de fluorescência amarelada
Solução referência (1)	***Solução referência (2)***	***Solução amostra***

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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) %***	***Eluente (B) %***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

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;

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 ($C_{42}H_{62}O_{16}$, 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 F_{254}.

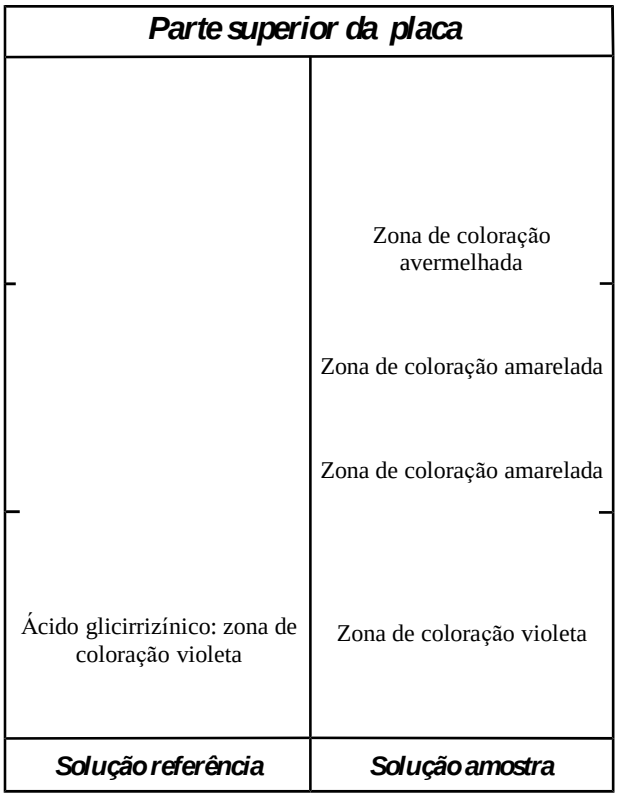
Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (70:20:10).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa 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.



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)*.

Diluente: 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 *Diluente*.

Solução referência: transferir 7 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o *Diluente*. 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 *Diluente*. Levar ao ultrassom por 10 minutos e completar o volume do balão com o *Diluente*. Transferir 1 mL, com auxílio de uma pipeta, para um balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com o *Diluente*. 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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\mathrm{A_1} \times \mathrm{C}_r \times 100 \times 5 \times 822{,}94}{\mathrm{A_2} \times m \times 839{,}97}$$

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.

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) ($C_{16}H_{18}O_9$, 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 F_{254}(0,25 mm).

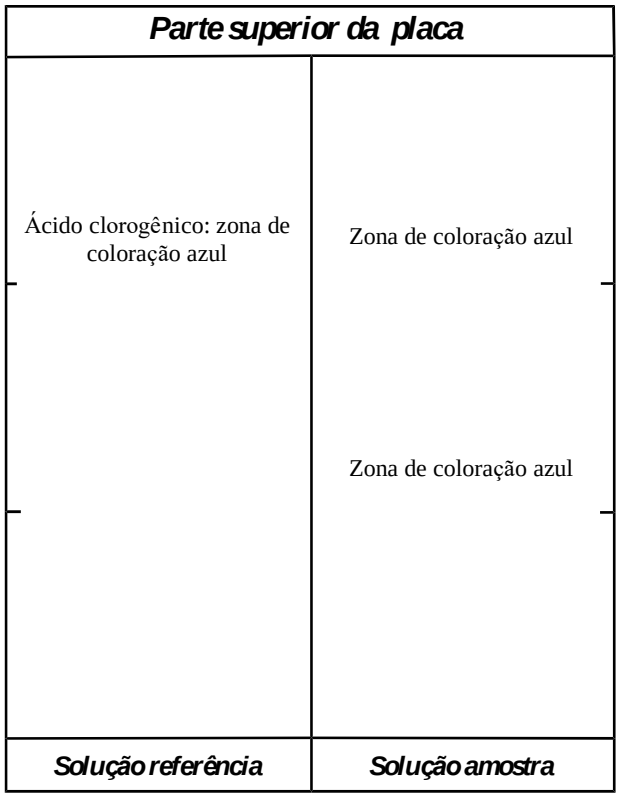
Fase móvel: acetato de etila, água, ácido acético e ácido fórmico (100:26:11:11).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com 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.



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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TAC} = \frac{\mathrm{A}_a \times m_r}{\mathrm{A}_r \times m_a}$$

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 ($C_{15}H_{14}O_6$, 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 F_{254} (0,25 mm).

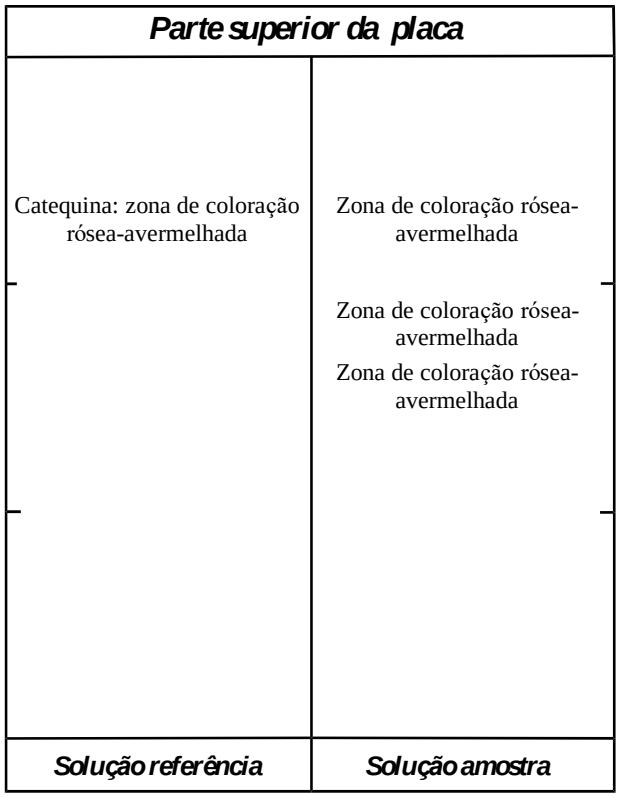
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

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.



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 µm), 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a}{\mathrm{A}_r \times m} \times 10 \times 100$$

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 ($C_7H_6O_5$, 170,12) e 0,49% de catequina ($C_{15}H_{14}O_6$, 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 F_{254} (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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaca, aplicar, separadamente, em forma de banda,20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplacas 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

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentado	Zona de coloração azul-acinzentado Zona de coloração azul-acinzentado
Solução referência (1)	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada
Solução referência (2)	***Solução amostra***

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 µm), 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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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 µm.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 7,2 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 40 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 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 ($C_{19}H_{21}NO_4$, 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 F_{254}.

Fase móvel: tolueno, álcool metílico e dietilamina (80:10:10).

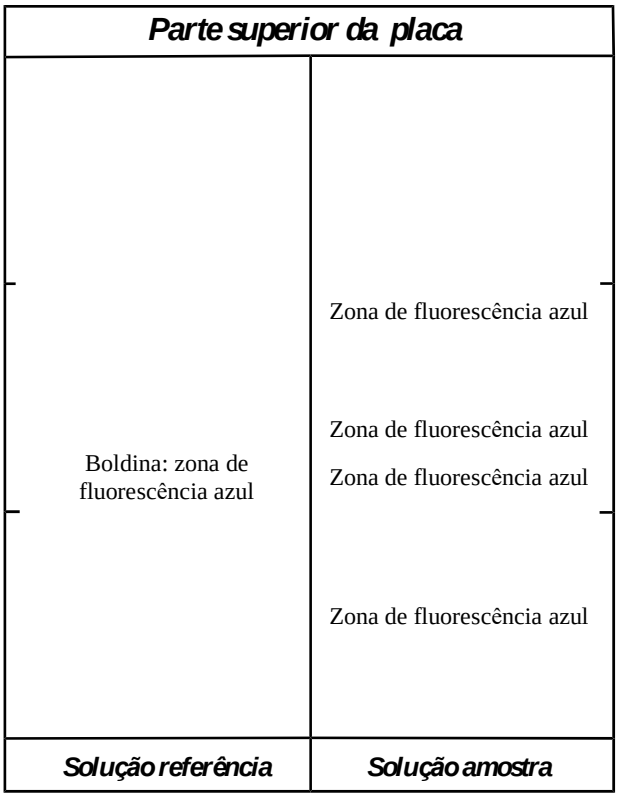
Solução amostra: transferir 25 mL do extrato e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60 ºC. Suspender o resíduo com duas porções de 10 mL de ácido clorídrico 2 *M*. Filtrar a solução em algodão e alcalinizar com hidróxido de amônio 6 *M* até pH 9. Transferir a solução para um 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.

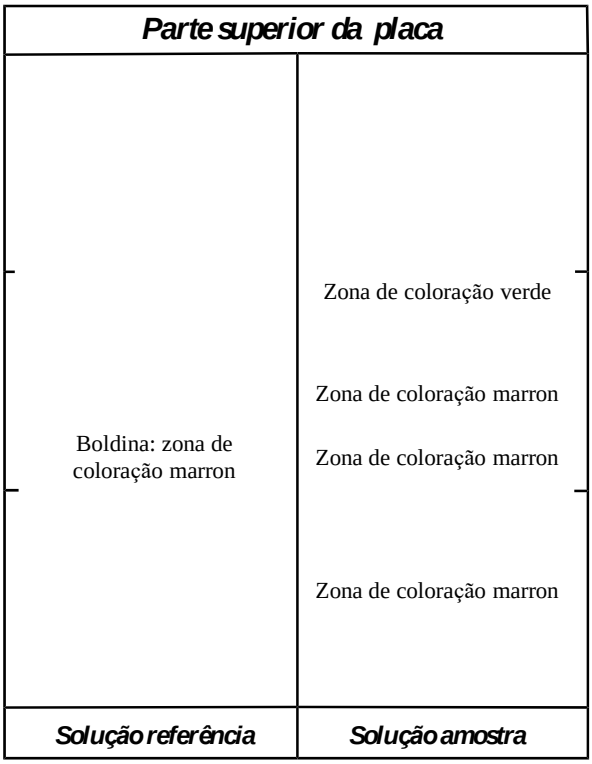
Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de boldina em álcool metílico, para obter a concentração de 400 µg/mL.

Revelador: iodobismutato de potássio aquo-acético.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL das *Solução amostra e* 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca 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.





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 ºC. 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:

$$\mathrm{TA} = \frac{\sum \mathrm{A}_1 \times m_r}{\mathrm{A}_r \times m_a \times 100}$$

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*.

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 ($C_{21}H_{20}O_{12}$, 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 F_{254}(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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 1{,}25}{m}$$

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 GF_{254}.

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 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. 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.

Parte superior da placa	
trans-2-Metoxi-cinalamdeido: zona de fluorescência azul-clara	Zona de coloração azul-clara Zona de coloração azul-clara
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
Eugenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violacea
Aldeído *trans*-cinâmico: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada
trans-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:

$$\mathrm{TA} = \mathrm{C}_a \times 1{,}25$$

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 ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 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 F_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico e água (100:17:13).

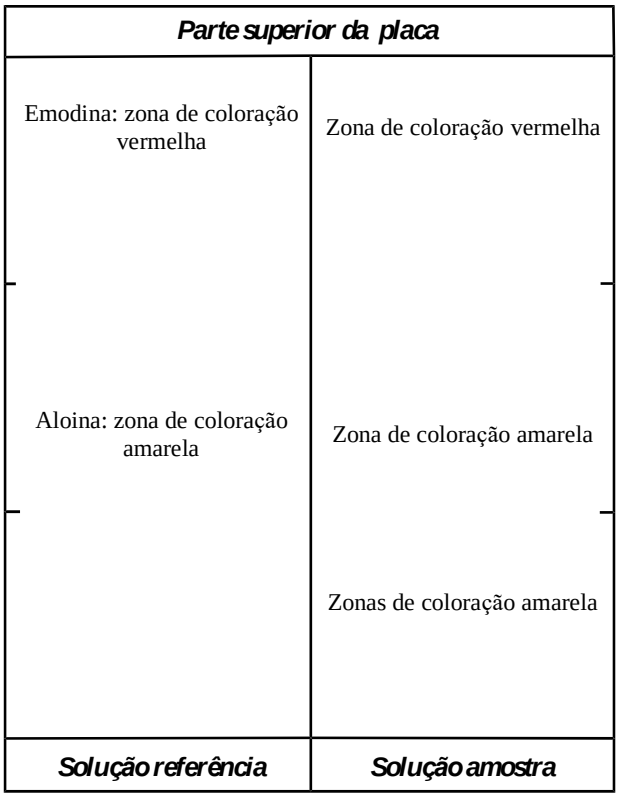
Solução amostra: secar 0,5 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Adicionar 5 mL de álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 cromatoplaca, 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



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 (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 (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 (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:

$$\mathrm{THAC} = \frac{\mathrm{A} \times 6{,}95}{m}$$

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 absorbância 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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{A} \times 6{,}95}{m}$$

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 cascara sagrada, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

CASTANHA-DA-ÍNDIA, extrato fluido
Hippocastani extracta fluida

O extrato fluido é obtido das sementes secas de *Aesculus hippocastanum* L., contendo no mínimo 3,0% de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra.

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando 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 GF_{254}.

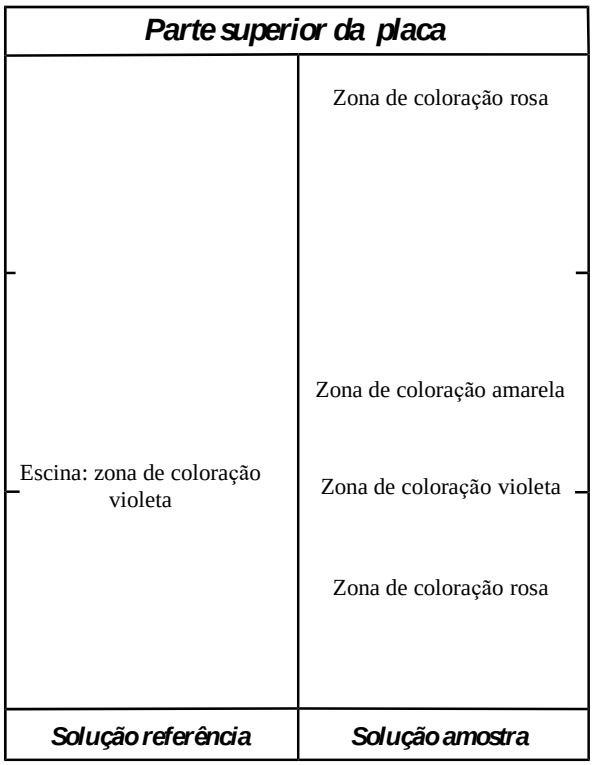
Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (50:40:10).

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 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.



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 ºC. 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:

$$\mathrm{TE} = \frac{\mathrm{C} \times 50}{m \times 3}$$

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 ($C_{21}H_{20}O_{12}$, 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 F_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, água, ácido acético e ácido fórmico (100:26:11:11).

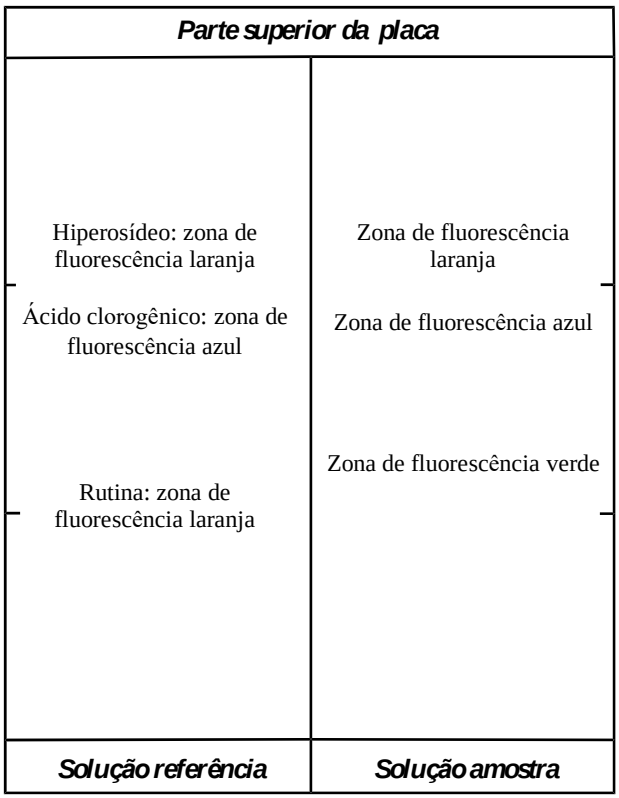
Solução amostra: secar 1,0 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 2 mL de álcool metílico, filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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.



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 cratego 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:

$$\mathrm{TF} = \frac{\mathrm{A} \times 1{,}235}{m}$$

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 ($C_{16}H_{20}O_9$, 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 GF_{254}.

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	*Z*ona de coloração castanho-enegrecida
Gentiopicrosídeo: zona de coloração castanho-enegrecida	*Z*ona 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

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 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.

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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 gentiopicrosídeo 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 gentiopicrosídeo. O tempo de retenção médio é de aproximadamente nove minutos. Calcular o teor de gentiopicrosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\mathrm{TG} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 10 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

em que,

TG = teor de gentiopicrosídeo % (p/p);
Cr = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;
Ar = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo na *Solução referência*;
Aa= área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo 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
Paulliniae 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 GF_{254}.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (7:3:0,5).

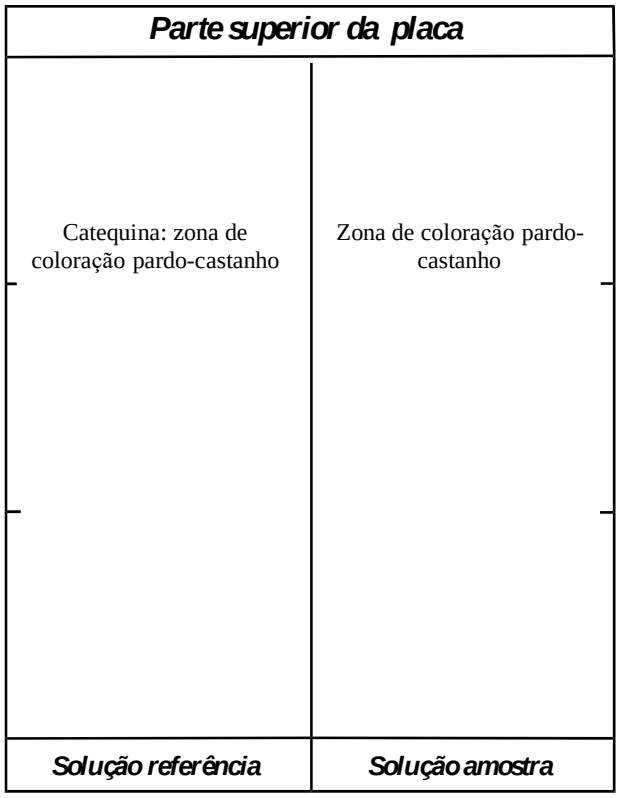
Solução amostra: diluir o extrato fluido em álcool etílico absoluto na proporção de 1:10 (v/v).

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 ºC 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.



Caracterização da presença de metilxantinas

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**.

Fase estacionária: sílica-gel GF_{254}.

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)**.**

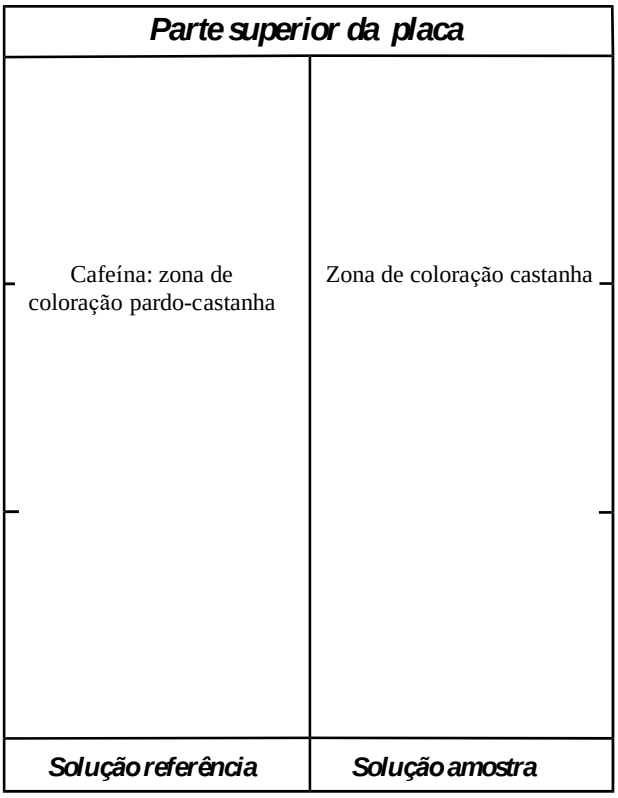
*Solução referência***:** solução a 100 µg/mL de cafeína em álcool metílico.

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 a 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 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.



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.* 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:

$$\mathrm{TC} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 10 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 ($C_6H_6O_3$, 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 F_{254}.

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 60ºC. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

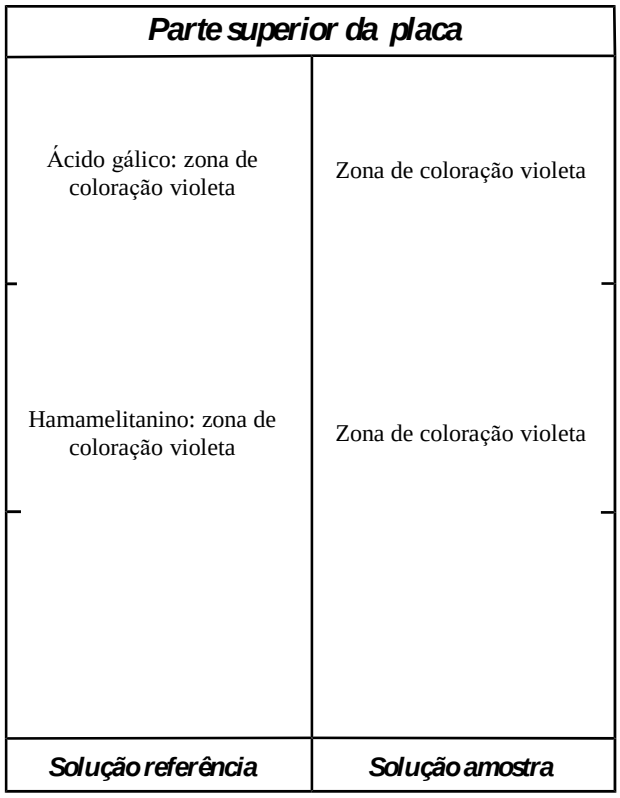
Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em álcool metílico, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

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.



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*. 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 absorbância 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 absorbância 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 absorbância 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 ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 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 G_{60}.

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.

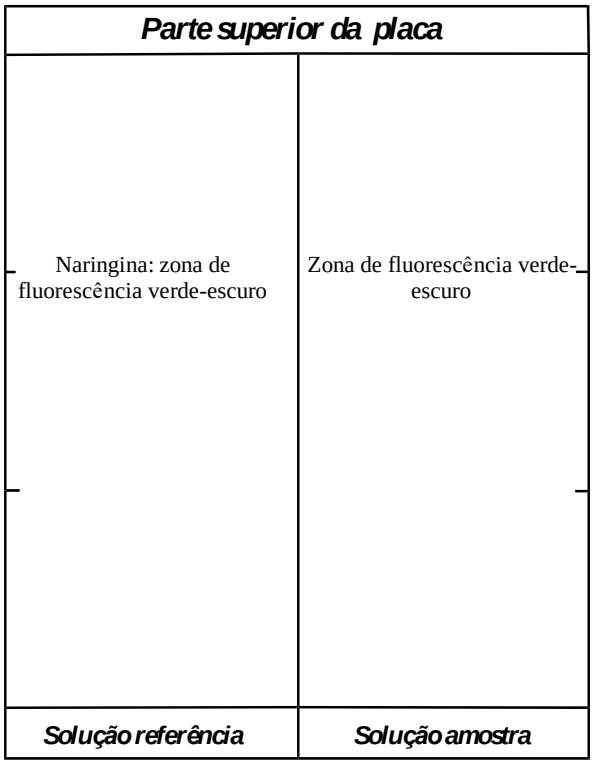
Solução referência: preparar uma solução a 10 mg/mL de naringina em álcool metílico.

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.



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.

Tempo	*Eluente (A) (%)*	*Eluente (B) (%)*	*Eluição*

(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:

$$\mathrm{TN} = \frac{\mathrm{C}_r \times \mathrm{A}_a \times 25 \times 100}{\mathrm{A}_r \times m}$$

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 ($C_8H_{10}N_4O_2$, 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 GF_{254}.

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%.

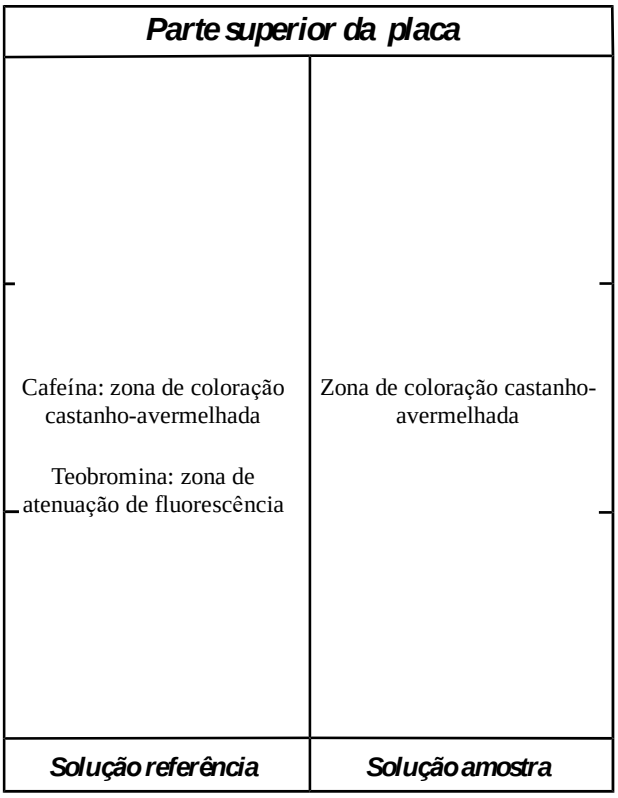
Solução referência (2): dissolver 10 mg de teobromina em 10 mL de uma mistura de água, álcool metílico e álcool etílico (1:2:2), aquecendo se necessário.

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver 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 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.



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

µg/mL e 11,2 µg/mL que juntamente com a solução de concentração de 16 µg/ mL obtida são as *Soluções para curva analítica*. Filtrar as soluções em unidade filtrante de 0,45 µm

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 µL das *Soluções para curva analítica* e 10 µL 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:

$$TC = C \times 0{,}08333$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/v);
C = concentração de cafeína em µg/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 ($C_{21}H_{22}N_2O_2$, 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 F_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (70:20:10).

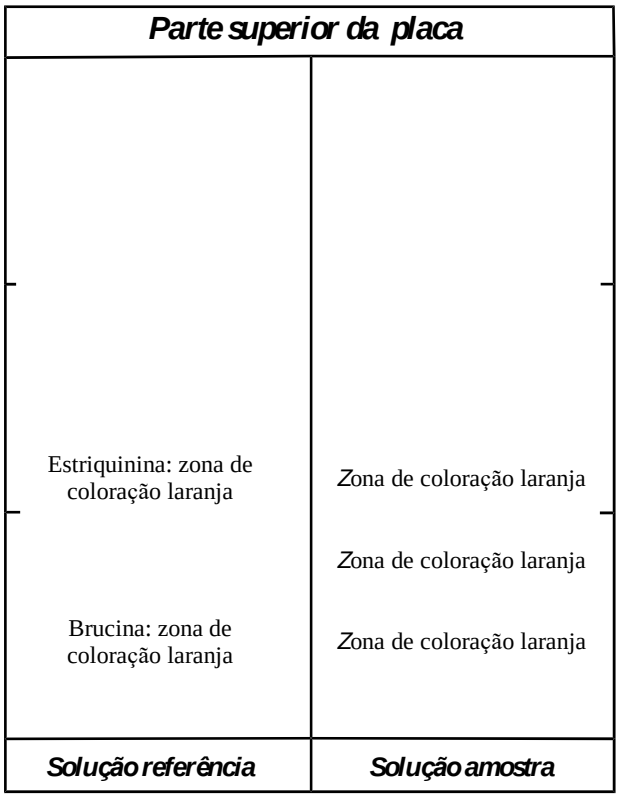
Solução amostra: secar 1,0 mL de extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 μm e proceder à análise cromatográfica.

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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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 cromatoplaca 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.



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:

$$\mathrm{TE} = \frac{\mathrm{A}_a \times \mathrm{C}_r}{\mathrm{A}_r \times \mathrm{C}_a}$$

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 mg/mL, considerando a pureza da substância de referência;
C_a = concentração da droga vegetal na *Solução amostra* em mg/mL.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

RATÂNIA, extrato fluido
Ratanhieae 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 ($C_6H_6O_3$, 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 F_{254} (0,25 mm).

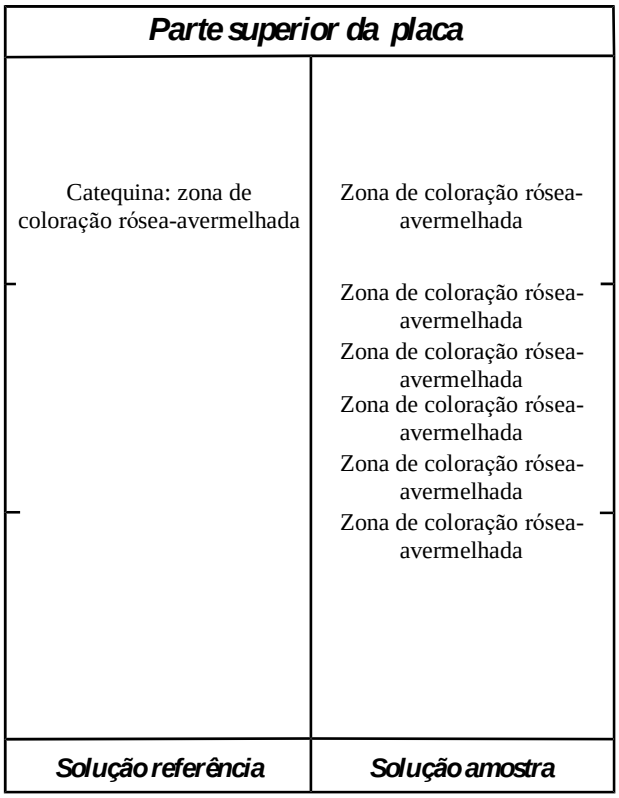
Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

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 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. 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.



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 ($C_{15}H_{22}O_2$, 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 GF_{254}.

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 ºC. 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 cromatoplaca, 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 cromatoplaca 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).

Tempo (minutos)	***Eluente (A) (%)***	***Eluente (B) (%)***	***Eluição***
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:

$$\mathrm{TAST} = \frac{\mathrm{C_r} \times (\mathrm{A_1} + \mathrm{A_2}) \times 10 \times 100}{\mathrm{A_r} \times m}$$

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 GF_{254} (0,25 mm).

Fase móvel: cloreto de metileno.

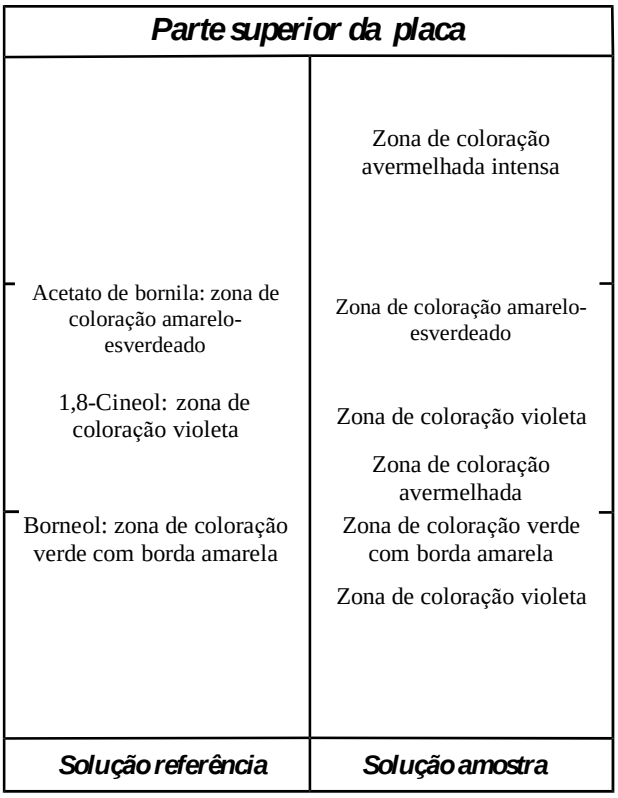
Solução amostra: diluir 0,5 mL da amostra a ser examinada em tolueno e completar o volume com o mesmo solvente para 10 mL.

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 ºC 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

.



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 C*romatografia 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 (ºC)
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.

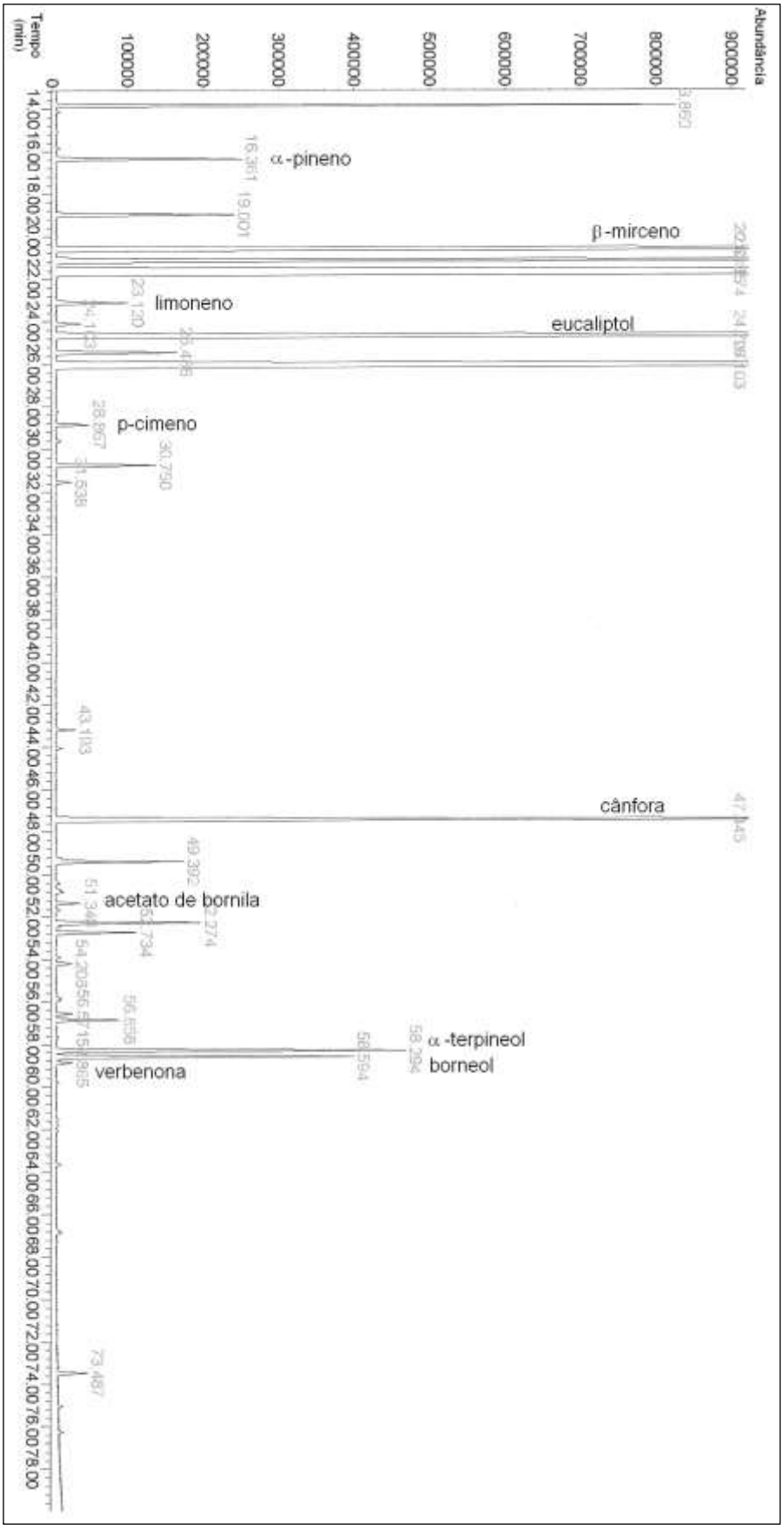


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Rosmarinus officinalis* L. por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas.

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 culombimétrico*. 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 behenico: 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 F_{254} (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 cromatoplacas, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplacas 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 cromatoplacas sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a segunda placa com o *Revelador (2)*, aquecer entre 100 ºC e 105 ºC, 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 cromatoplaca, com *Revelador (1 e 2)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
trans-Anetol: zona de atenuação de fluorescência	Zona de muito intensa de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência
Anisaldeído: zona de atenuação de fluorecência	Zona de atenuação de fluorescência
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
trans-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 C*romatografia 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 (ºC)
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%.

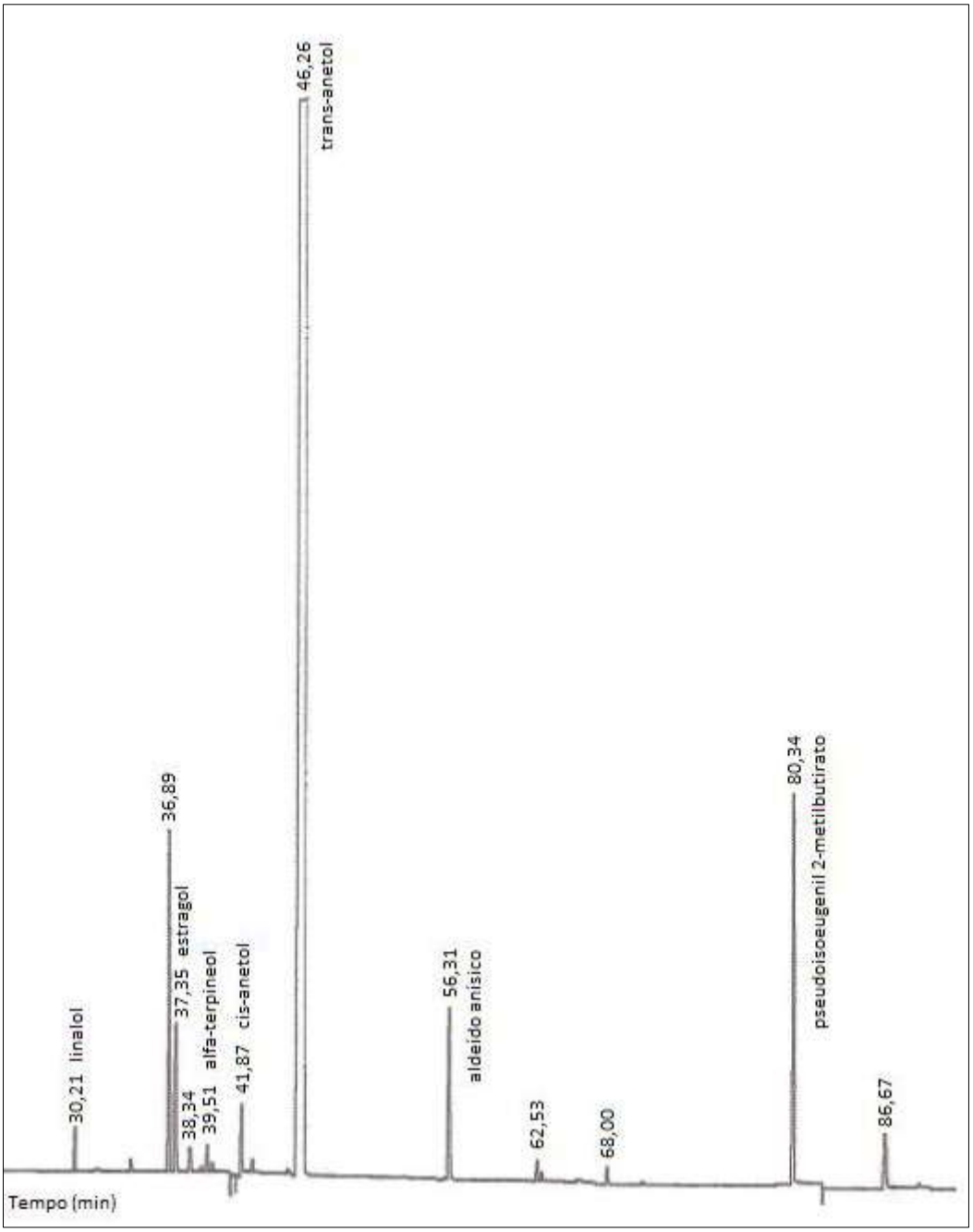


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Pimpinella anisum* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

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 GF_{254}.

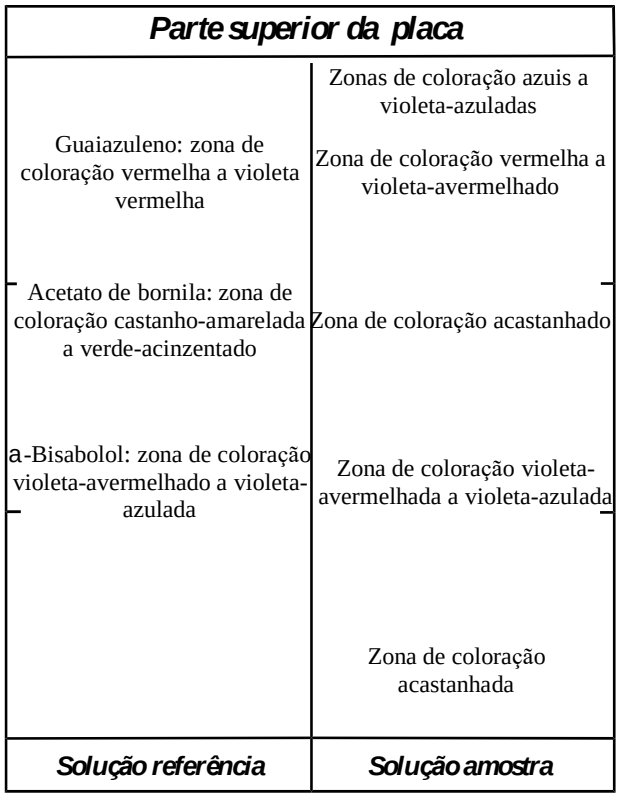
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

Solução amostra: diluir 2 mg da amostra em 1 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 2 mg de guaiazuleno, 5 µL de α-bisabolol e 10 mg de acetato de bornila em 5 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 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.



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 (ºC)
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 cicloexano. 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	≥1,0	≥1,0
total de óxidos de bisabolol e α-bisabolol		≥20

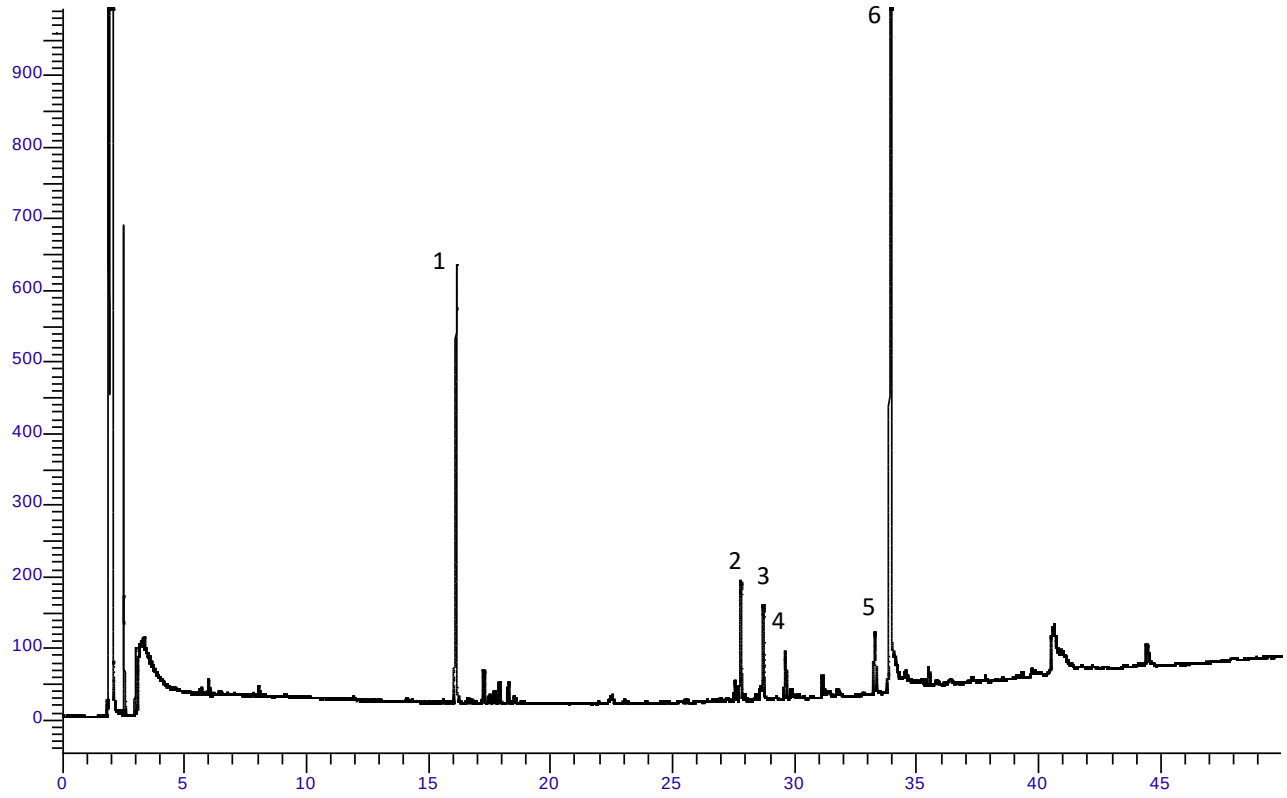


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Matricaria chamomilla* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama. 1-(*Z*)-β-farneseno, 2- óxido de bisabolol B, 3- bisabolona, 4- α-bisabolol, 5- camazuleno, 6- óxido de bisabolol A.

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 GF_{254}(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 cromatoplacas, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução referência* e 2 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar a primeira placa sob a luz ultravioleta em 254 nm, nebulizar a placa com anisaldeído R 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 anisaldeído R 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 anisaldeído R e é de fraca intensidade para amostras autênticas.

Parte superior da placa	
Aldeído *trans*-cinâmico: zona de coloração cinza-escuro Cumarina: zona de coloração cinza-escuro	Zona de fluorescência azul intensa
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
Aldeído *trans*-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 +1º.

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 C*romatografia 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 (ºC)
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%.

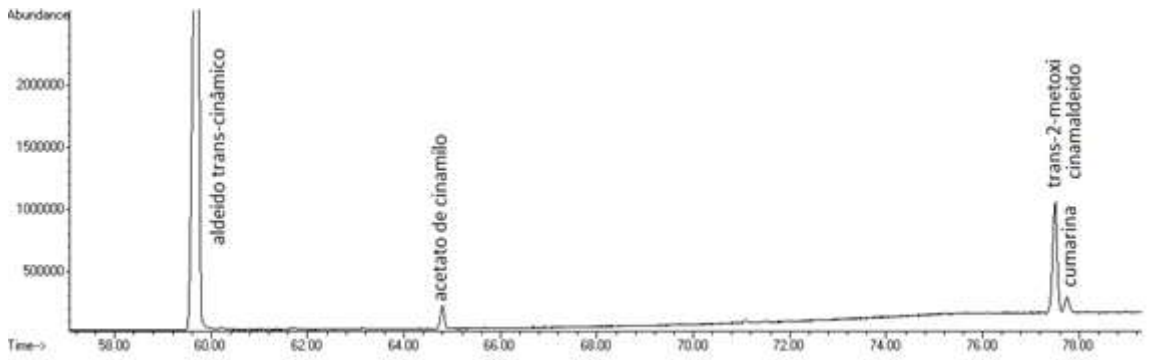


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl por cromatografia a gás acoplada a detector de massas.

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 *Cinnamonum 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 F_{254} (250 µm).

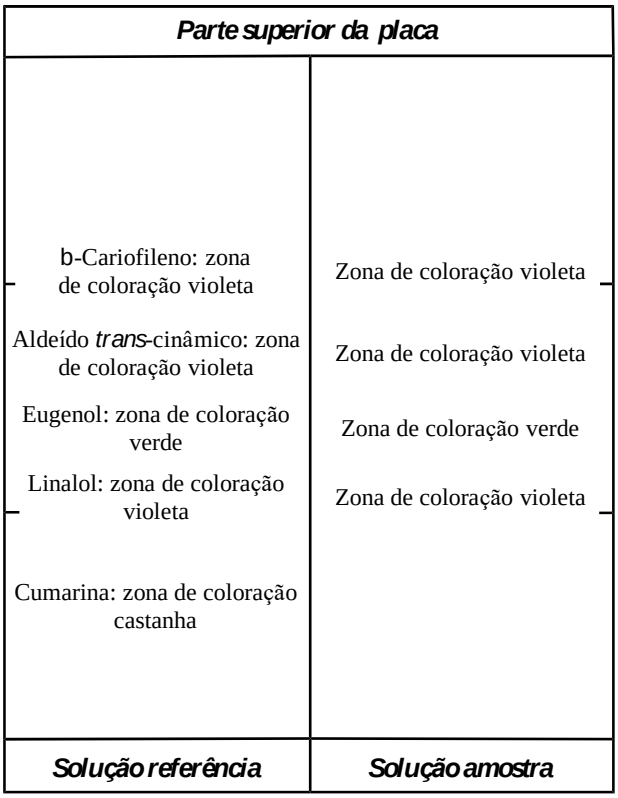
Fase móvel: tolueno e álcool metílico (90:10).

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 R, 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 cromatoplaca nenhuma banda fluorescente para a *Solução amostra* deve ser visualizada. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.



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 (ºC)
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%.

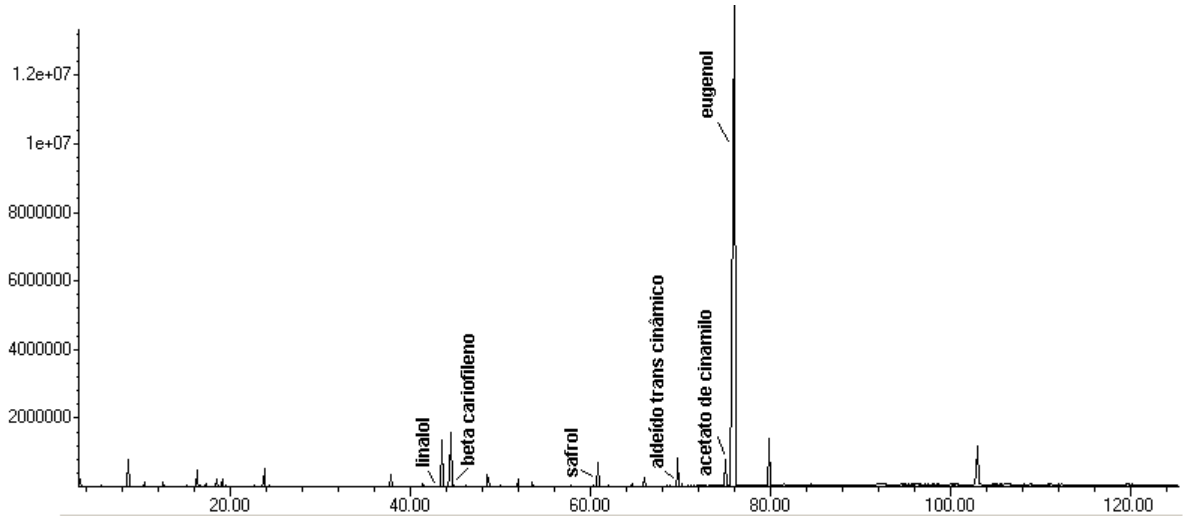


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cinnamonum verum* J.S.Presl por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

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: cromatoplaca de sílica-gel GF_{254}.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (93:7).

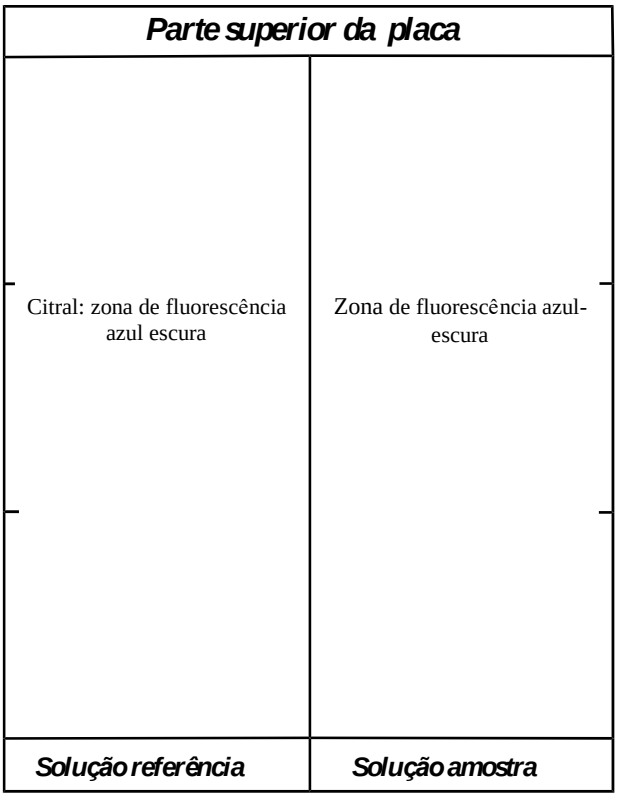
Solução amostra: diluir 2 µL da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

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 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 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.



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° a -1,10°.

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 (ºC)
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%.

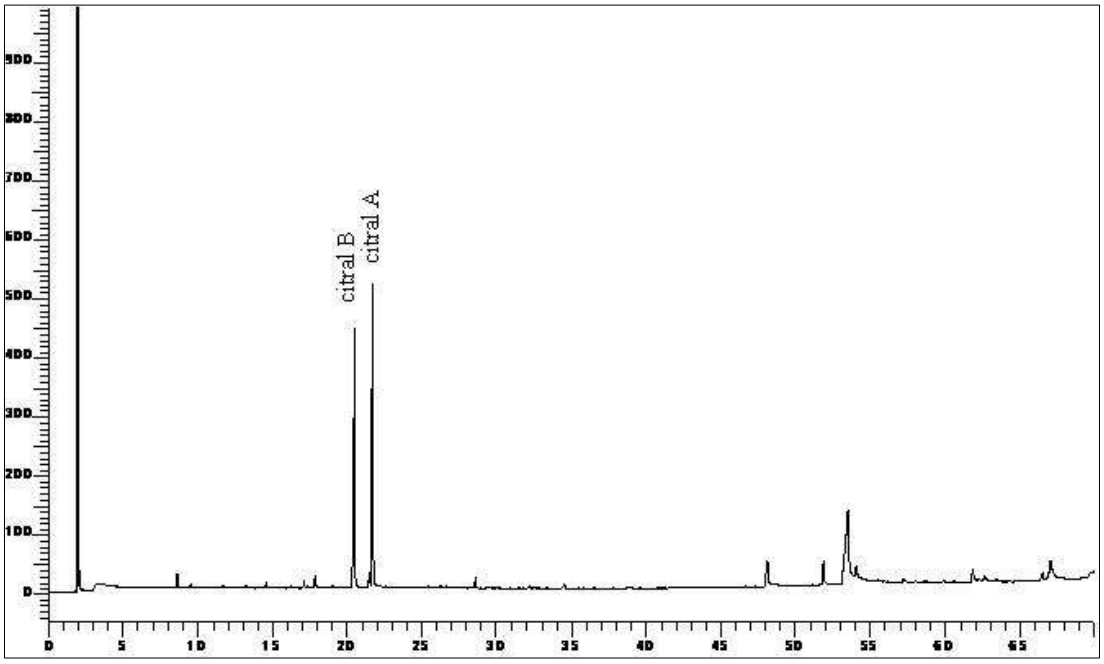


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama.

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).

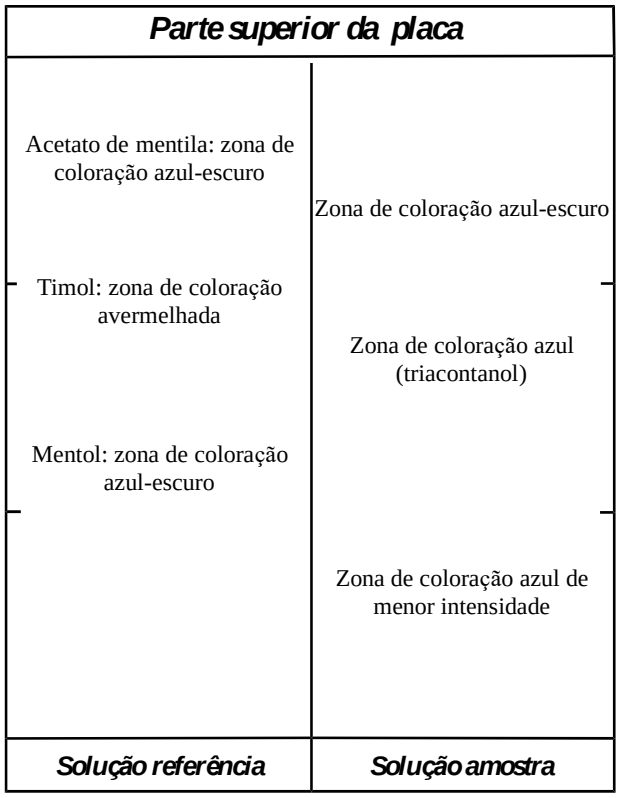
Solução amostra: dissolver, a quente, 0,10 g de amostra em 5 mL de clorofórmio. Aplicar a solução ainda quente.

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 fosfomolíbdico 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 ºC 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.



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 ($C_{10}H_{18}O$, 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 GF_{254}.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (5:95).

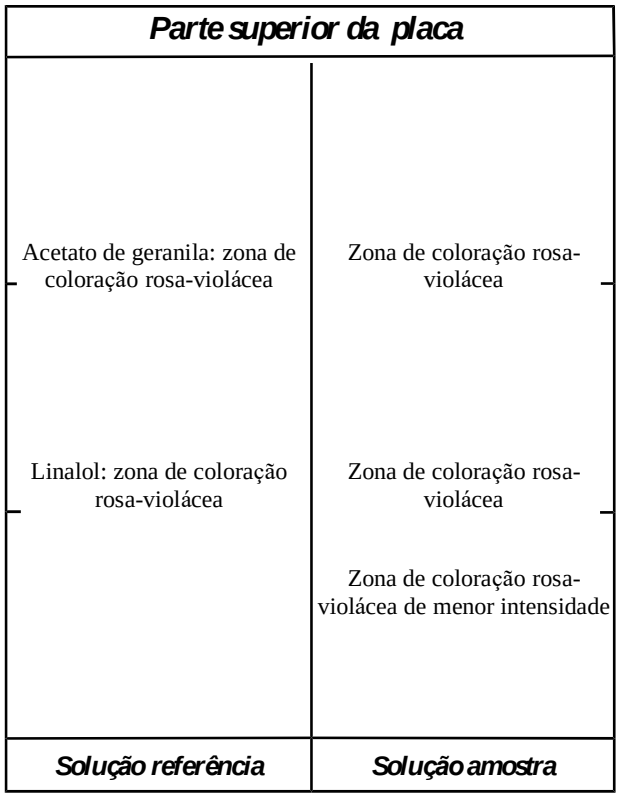
Solução amostra: diluir 10 µL da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

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 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 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.



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 (ºC)
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%.

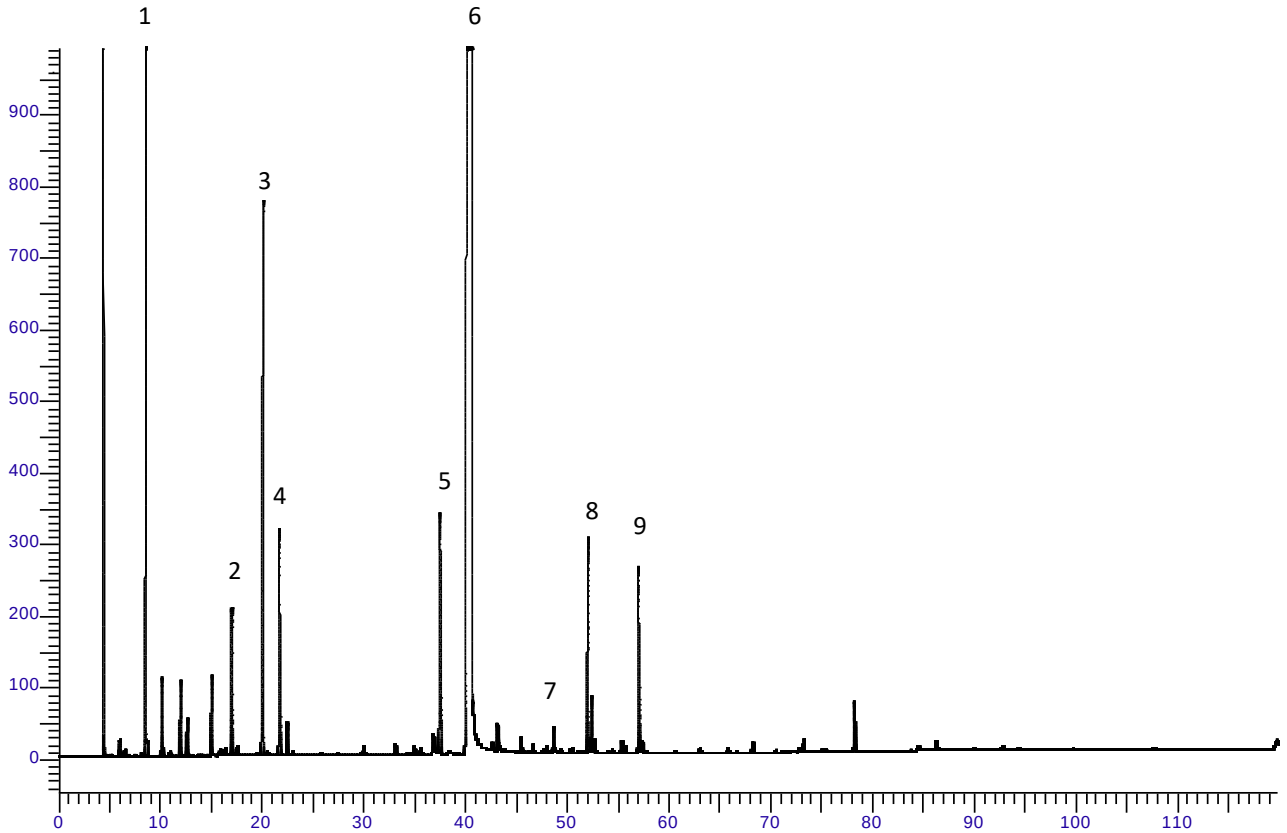


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Coriandrum sativum* L., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α-pineno, 2- limoneno, 3- γ-terpineno, 4- *p*-cimeno, 5- cânfora, 6- linalol, 7- α-terpineol, 8- acetato de geranila, 9- geraniol.

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 μm. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1,3 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
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 μL 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 μL 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 ($C_{10}H_{12}O_2$, 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 GF_{254}.

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.

Parte superior da placa	
Eugenol: zona de extinção de fluorescência	Zona de extinção de fluorescência
Acetato de eugenila: zona de extinção de fluorescência	Zona de extinção de fluorescência
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violeta-avermelhada
Eugenol: zona de coloração castanho-violeta	Zona de coloração castanho-violeta
Acetato de eugenila: zona de coloração castanho-violeta	Zona de coloração castanho-violeta
Solução referência	***Solução amostra***

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 (ºC)
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 ºC.

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%.

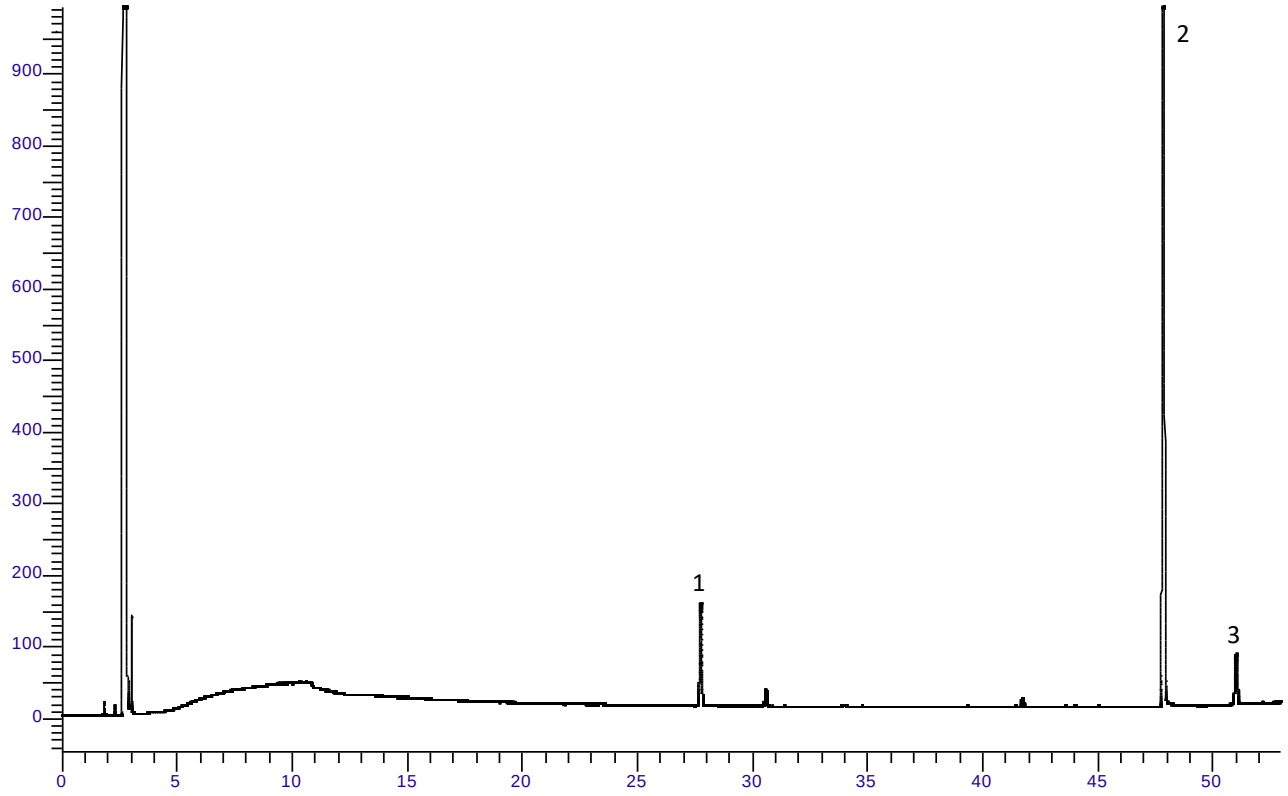


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1– β-cariofileno, 2– eugenol e 3– acetato de eugenila.

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 ($C_{10}H_{18}O$, 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 GF_{254}.

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.

Parte superior da placa	
1,8-Cineol: zona de coloração marron-avermelhada	Zona de coloração marron-avermelhada
a-Terpineol: zona de coloração marron-avermelhada	Zona de coloração marron-avermelhada
Solução referência	***Solução amostra***

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 esmerilada 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 (ºC)
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%.

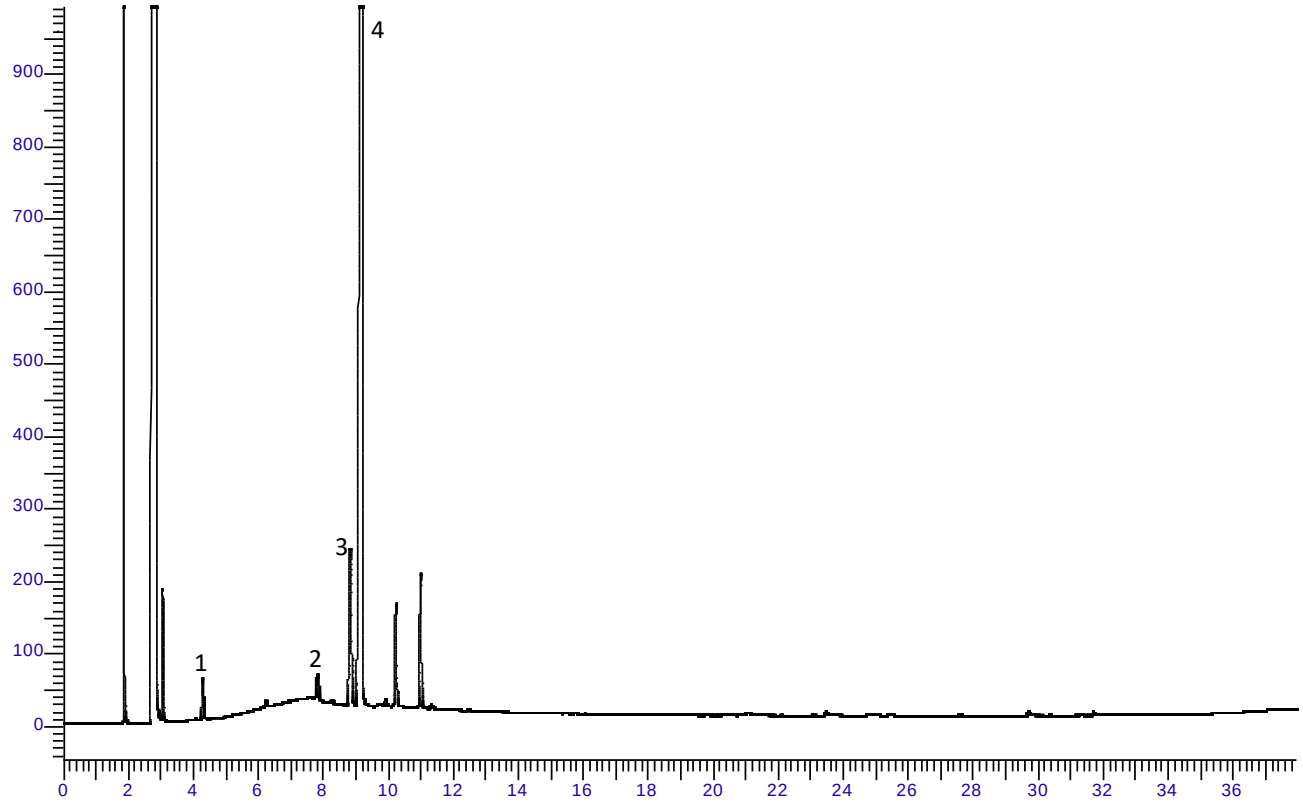


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Eucalyptus globulus* Labill., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1 - α-pineno, 2 - α-felandreno, 3 - limoneno, 4 - 1,8-cineol.

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 ($C_{10}H_{18}O$, 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 GF_{254}.

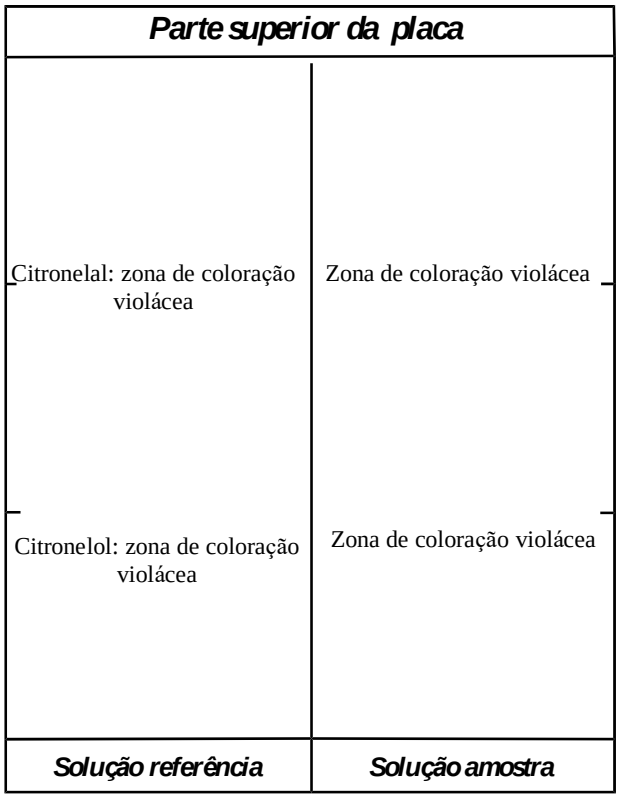
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (90:10).

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 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.



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°.

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 (ºC)
Coluna	0 – 2	80
	2 – 35	80 → 185
	35 – 55	185 → 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%.

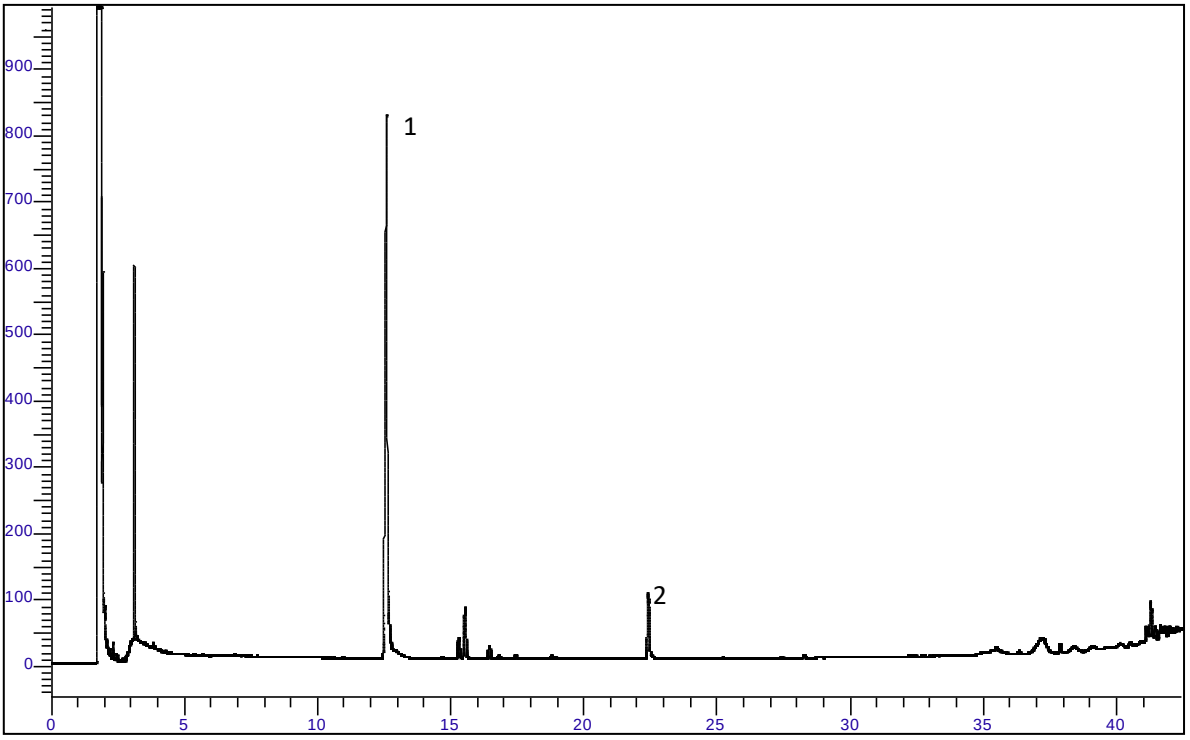


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1 - citronelal, 2 – citronelol.

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 GF_{254}.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (93:7).

Solução amostra: diluir 5 µL da amostra a ser examinada em 500 µL de tolueno.

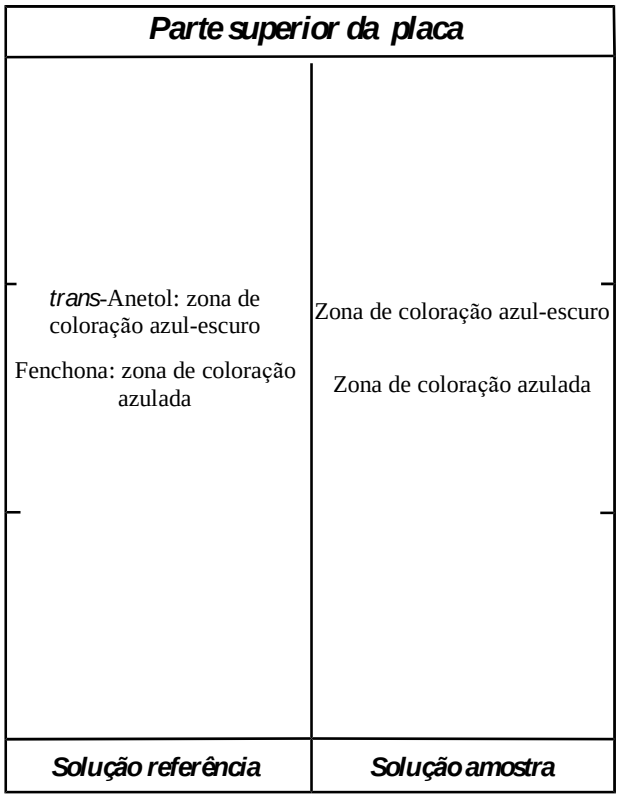
Solução referência: diluir 6 µL de *trans*-anetol e 6 µL de fenchona em 500 µL de tolueno.

Revelador (1): dissolver 4 g de ácido fosfomolíbdico 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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca 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.



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 (ºC)
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%.

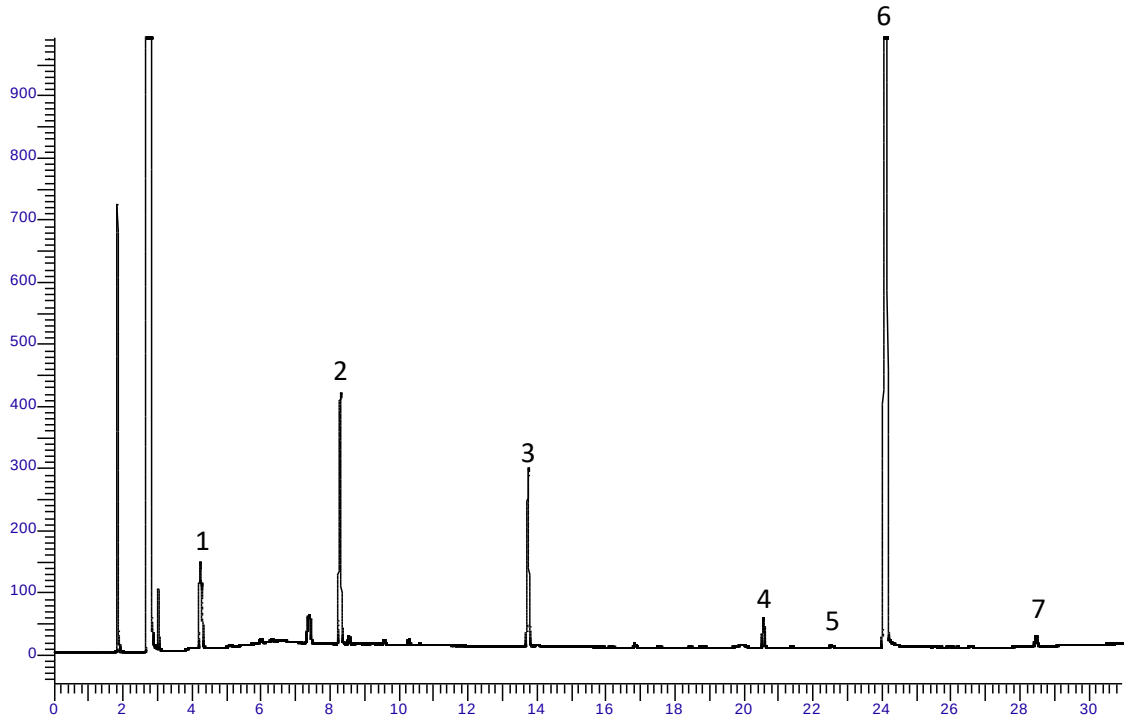


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α-pineno, 2- limoneno, 3- fenchona, 4-estragol, 5- *cis*-anetol, 6- *trans*-anetol e 7- anisaldeído.

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).

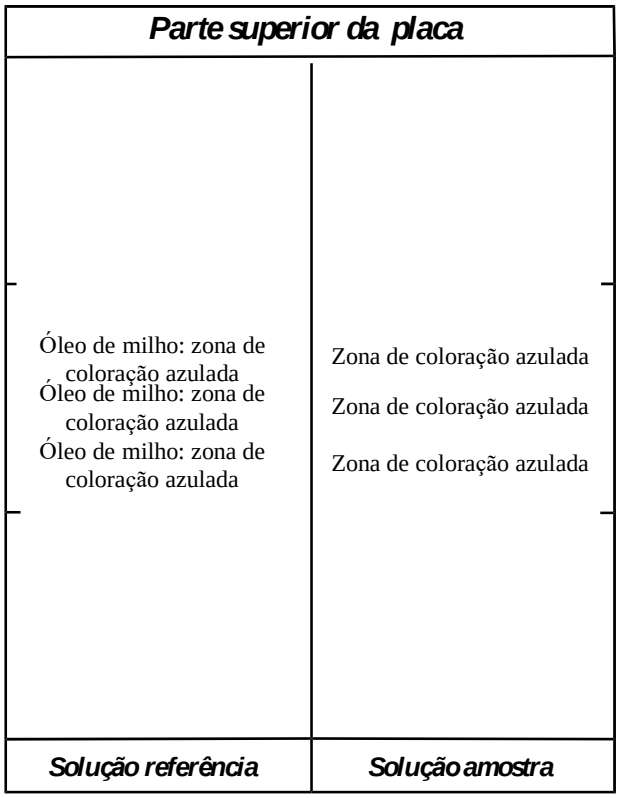
Solução amostra: diluir 20 µL de óleo de girassol em 3 mL de cloreto de metileno. Diluir 1 µL desta solução em 20 µL de cloreto de metileno.

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 fosfomolíbdico 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.



TESTES

Solubilidade. Muito pouco solúvel em álcool etílico a 95%. Muito solúvel em éter de petróleo em temperatura entre 40 °C e 60 ºC. Praticamente insolúvel em água.

Densidade relativa (5.2.5). 0,900 a 0,921.

Água (5.2.20.1). *Método culombimétrico*. 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 ($C_{10}H_{20}O$, 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 F_{254} (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 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 abundância com solução de vanilina sulfúrica. 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 solução de vanilina sulfúrica e aquecimento durante um minuto e durante mais três minutos, na ordem. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
Carvona e pulegona: zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência
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
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
	Zona de coloração azul claro
Solução referência	***Solução amostra***

TESTES

Rotação óptica (5.2.8). -16° a -34º.

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 C*romatografia 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 (ºC)
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%.

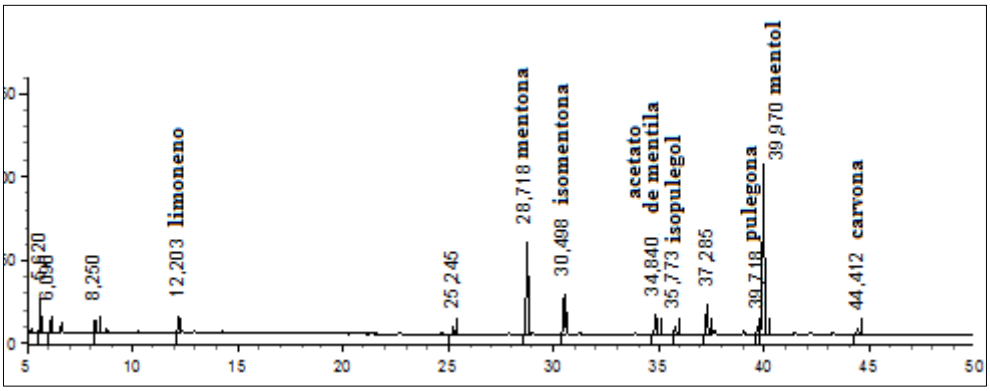


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Mentha arvensis* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

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 GF_{254} (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 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. 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.

Parte superior da placa	
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
Solução referência	***Solução amostra***

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 (ºC)
Coluna	0 – 80	60 → 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:

$$\mathrm{IRR} = 100 \times \mathrm{n} + \frac{100 \times (\mathrm{tr_x} - \mathrm{tr_z})}{(\mathrm{tr_{z+1}} - \mathrm{tr_z})}$$

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.

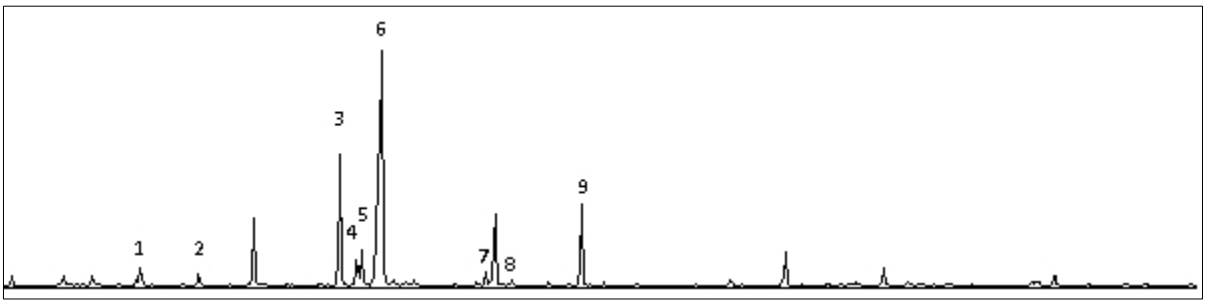


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo, obtido com o óleo volátil de *Mentha* × *piperita* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

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 ($C_{10}H_{16}$, 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 GF_{254}.

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 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. 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.

Parte superior da placa	
Antranilato de metila: zona de fluorescência azul	Zona fraca de fluorescência azul
Bergapteno: zona de fluorescência amarela-esverdeada	
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
	Zona fraca de fluorescência laranja-acastanhado
Acetato de linalila: zona de fluorescência amarelo 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	Zona de fluorescência laranja
Bergapteno: zona de fluorescência amarelo-esverdeado	
	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 (ºC)
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%.

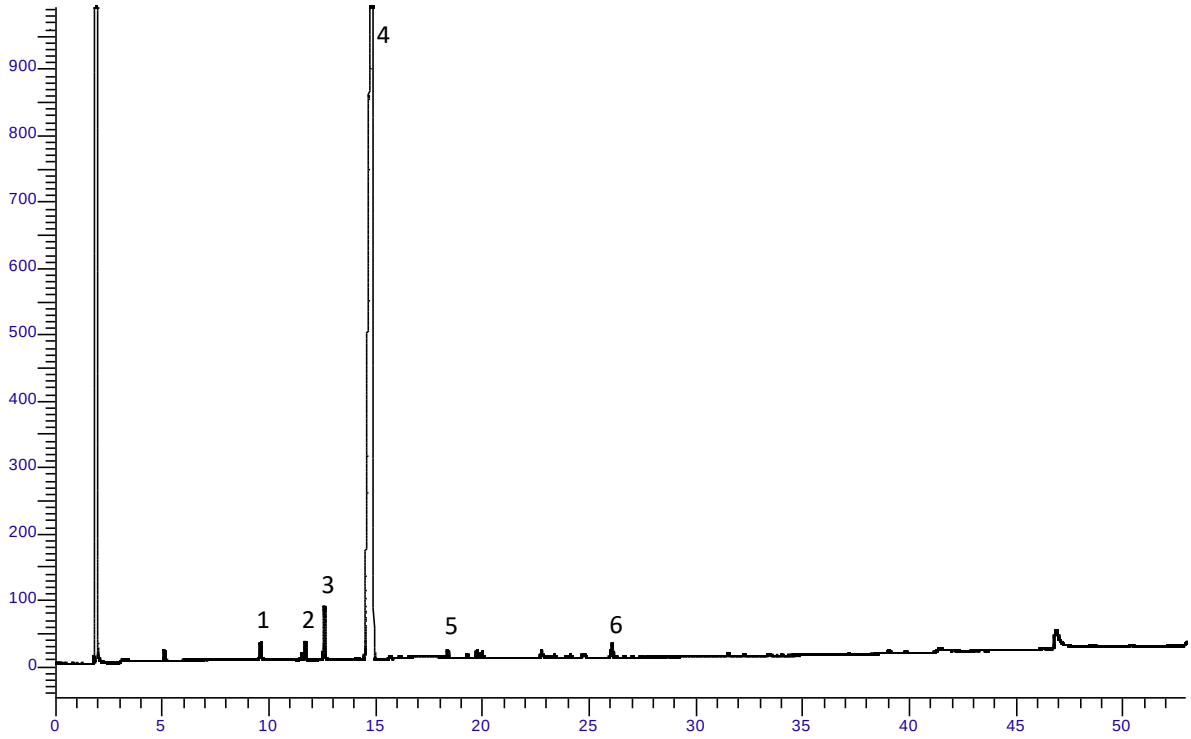


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium* por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α-pineno, 2- β-pineno, 3- mirceno, 4- limoneno, 5- linalol, 6- acetato de linalila.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor em temperatura inferior a 25 ºC.

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 ($C_{10}H_{16}$, 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 GF_{254}.

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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Remover a cromatoplaca 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.

Parte superior da placa	
Bergapteno: zona de fluorescência amarela-esverdeada	Outras zonas de fluorescência azul
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
Acetato de linalila: zona de fluorescência amarela-esverdeada	Zonas de fluorescência castanha Zonas de fluorescência amarela-acastanhada Zonas de fluorescência laranja
Linalol: zona de fluorescência laranja Bergapteno: zona de fluorescência esverdeada fraca	Zonas de fluorescência laranja Zonas de fluorescência laranja-acastanhada Zonas de fluorescência azul
Solução referência	***Solução amostra***

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 (ºC)
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 ($C_{10}H_{16}$, 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 F_{254} (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 cromatoplaca, separadamente, em forma de bandas, 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. 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.

Parte superior da placa	
	Zona de atenuação de fluorescência
Citral: zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência
Citropteno:zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência
	Zona de atenuação de fluorescência
	Zona de atenuação de fluorescência
Solução referência	***Solução amostra***

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul brilhante
Citropteno:zona de fluorescência azul brilhante	Zona de fluorescência azul brilhante
	Zona de fluorescência laranja
Solução referência	***Solução amostra***

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.

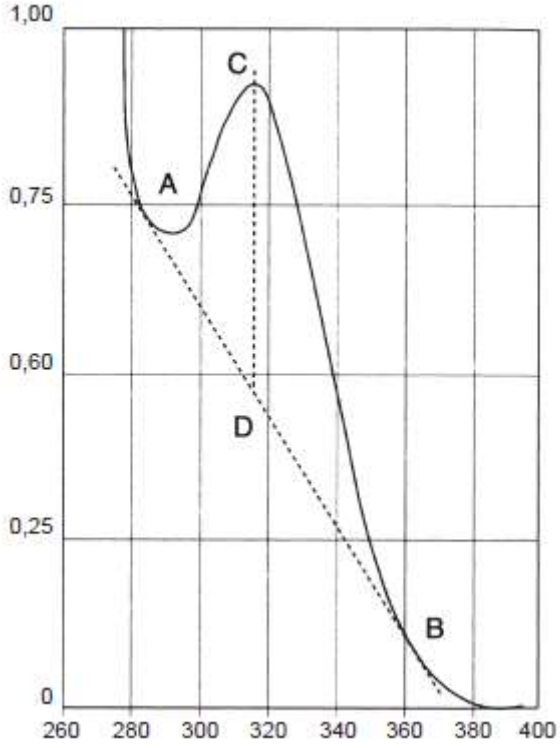


Figura 1 – Espectro de absorvância no ultravioleta do pericarpo fresco de *Citrus* × *limon* (L.) Osbeck.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em C*romatografia 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 (ºC)
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 geranilo 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 geranilo.

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 geranilo, 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
Melaleucae 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 ($C_{10}H_{18}O$, 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 GF_{254}.

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.

Parte superior da placa	
1,8-Cineol: zona de coloração rosa	Zonas de coloração rosa
Terpinen-4-ol: zona de coloração rosa	Zonas de coloração rosa
a-Terpineol: zona de coloração rosa	Zona de coloração rosa
Solução referência	***Solução amostra***

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 µm. Utilizar nitrogênio purificado como gás de arraste (1,3 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 1	50
	1 – 37	50 → 230
	37 – 45	230
Injetor		240
Detector		240

Solução amostra: diluir 4,5 µL do óleo volátil em 300 µL de hexano.

Solução referência: dissolver 5 µL de α-pineno, 5 µL de sabineno, 15 µL α-terpineno, 5 µL de limoneno, 5 µL de 1,8-cineol, 30 µL de γ-terpineno, 5 µL de *p*-cimeno, 5 µL de terpinoleno, 60 µL de terpinen-4-ol, 5 µL de aromadendreno e 5 mg de α-terpineol em 10 mL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 1 µL 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%.

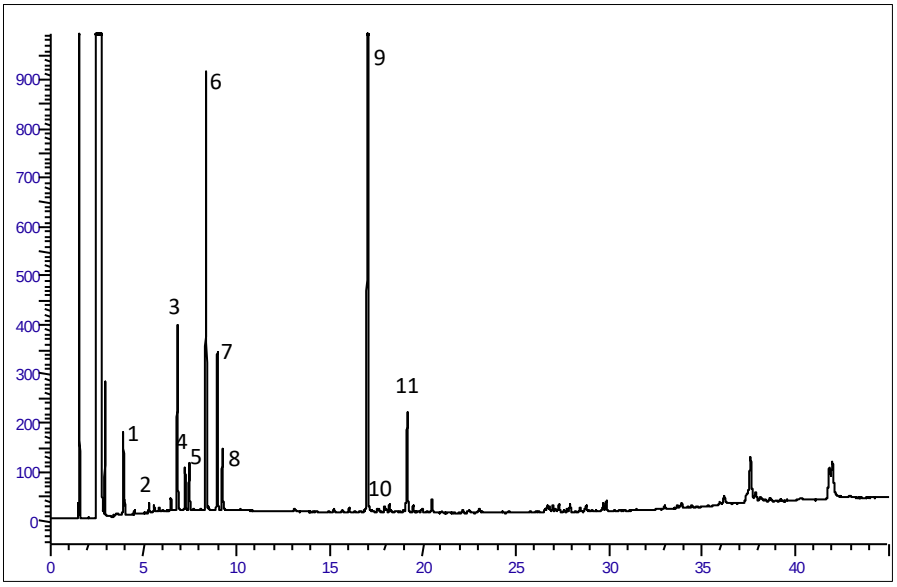


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α-pineno, 2- sabineno 3- α-terpineno, 4- limoneno, 5- 1,8-cineol, 6- γ–terpineno, 7- *p*-cimeno, 8- terpinoleno, 9- 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 GF_{254}.

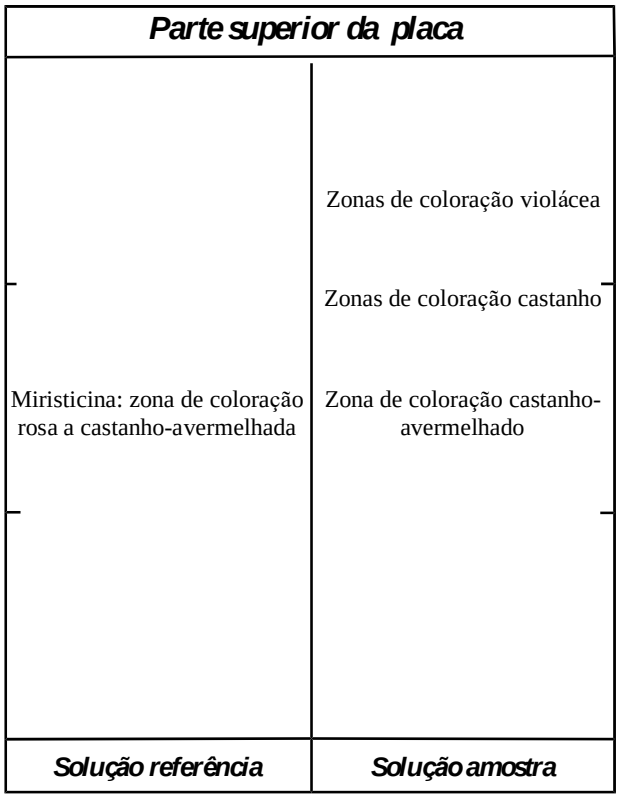
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

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 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 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.



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 (ºC)
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%.

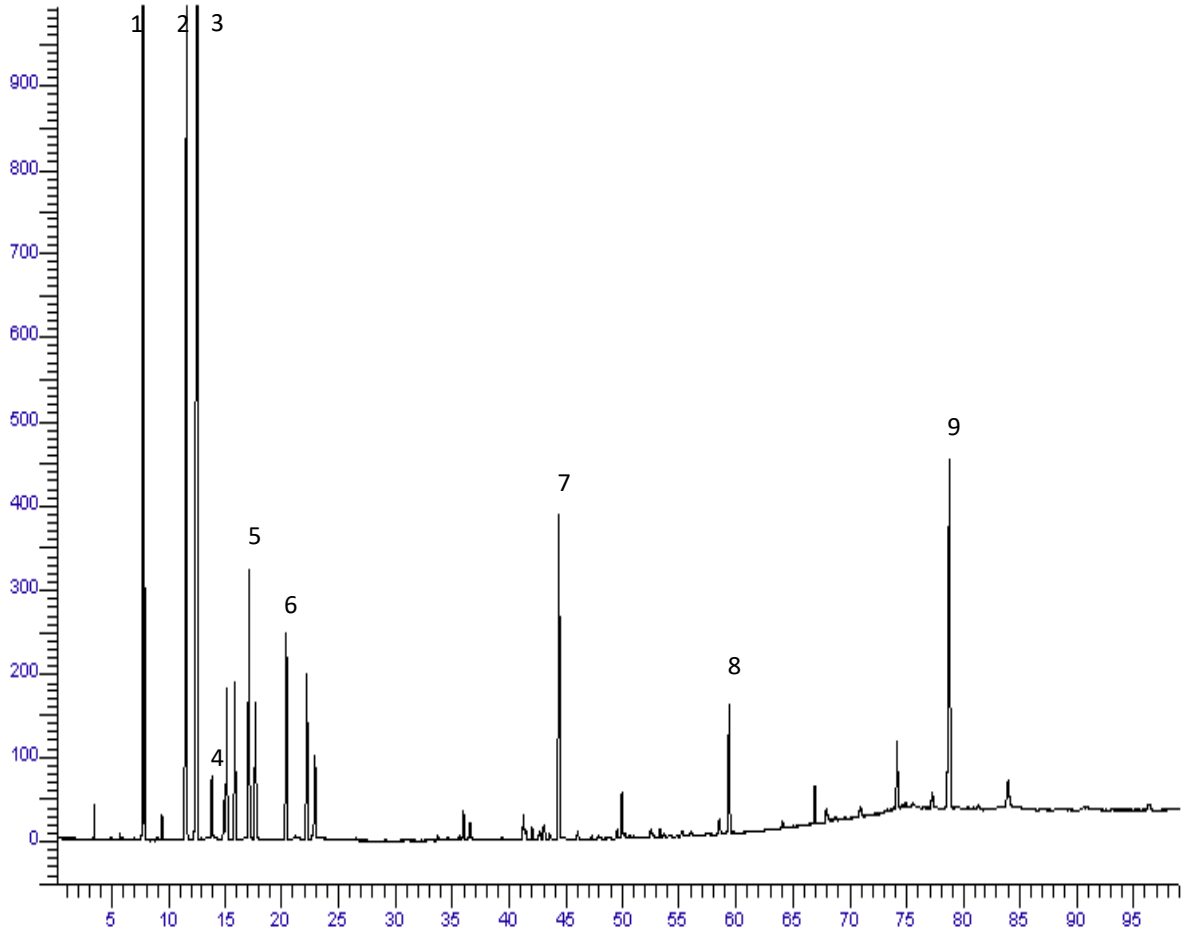


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Myristica fragans* Houtt. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α-pineno, 2- β-pineno, 3- sabineno, 4- 3-careno, 5- limoneno, 6- γ-terpineno, 7- terpinen-4-ol, 8- safrol e 9- miristicina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor em temperatura inferior a 25 ºC.

OLIVA, óleo virgem
Olivae oleum virginum

Óleo fixo obtido, por espressão 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).

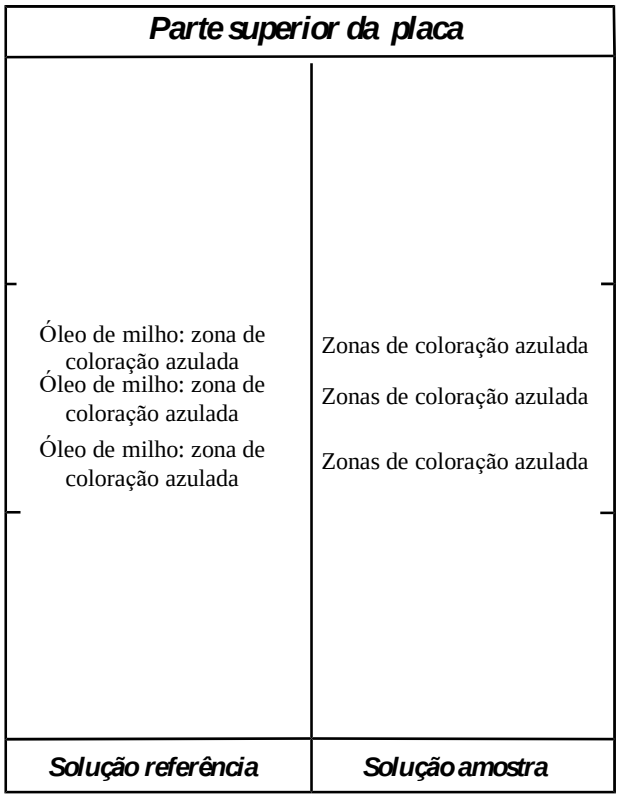
Solução amostra: diluir 20 µL de óleo em 3 mL de cloreto de metileno e homogeneizar. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de cloreto de metileno.

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 fosfomolíbdico 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.



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 behenico: 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 ($C_{10}H_{18}O$, 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 GF_{254}.

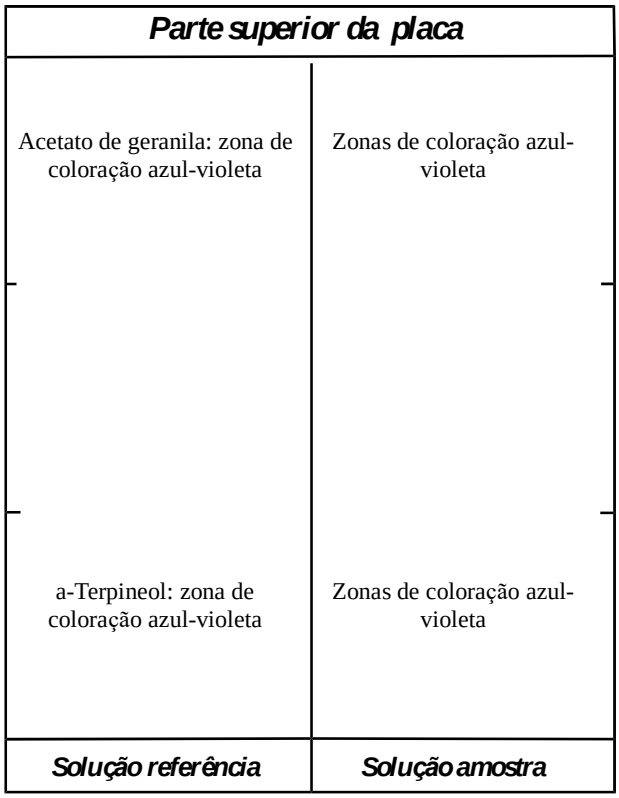
Fase móvel: tolueno e acetato de etila (90:10).

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.



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 (ºC)
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%.

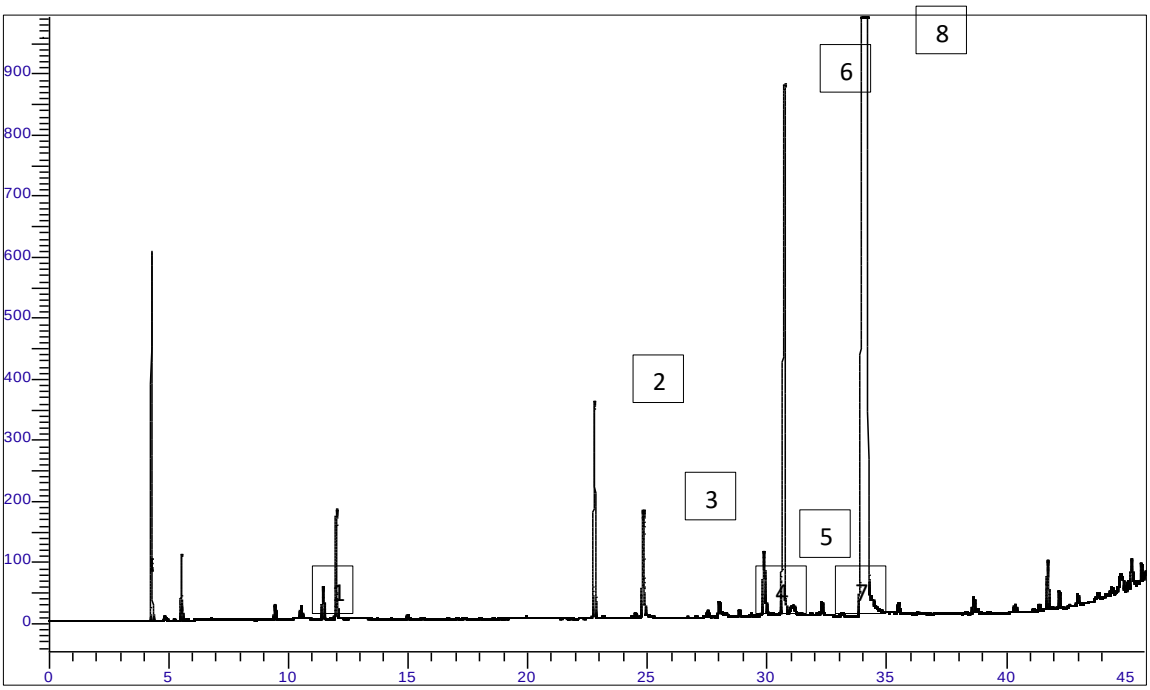


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cymbopogon martini* (Roxb.) Will.Watson por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- mirceno, 2- linalol, 3- β-cariofileno, 4- citral b, 5- citral a, 6- acetato de geranila, 7- citronelol e 8- geraniol.

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 F_{254} (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 ºC 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.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violeta
Timol: zona de coloração rosa-acastanhado Carvacrol: zona de coloração violeta-pálido	Zona de coloração rosa acastanhado Zona de coloração violeta pálido
Linalol: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
a-Terpineol: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Solução referência	***Solução amostra***

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,915 a 0,935.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,499 a 1,505.

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 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (ºC)
Coluna	0 – 15	60
	15 – 61,7	60 → 200
	61,7 – 91,7	200
Injetor		200
Detector		220

Solução amostra: diluir 0,1 mL do óleo volátil de tomilho em 10 mL de hexano. Armazenar sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Solução referência: dissolver 0,15 g de β-mirceno, 0,1 g de γ-terpineno, 0,1 g de *p*-cimeno, 0,1 g de linalol, 0,2 g de terpinen-4-ol, 0,2 g de timol e 50 mg de carvacrol em 5 mL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução referência* e 0,5 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 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 de preparação da *Solução referênci*a. Registre os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema
Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo, 1,5 entre os picos referentes ao timol e carvacrol.

Números de pratos teóricos: no mínimo, 30 000, calculado para o pico referente ao *p*-cimeno, a 80 ºC.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: β-mirceno, 1,0 a 3,0%; γ-terpineno, 5,0 a 10,0%; *p*-cimeno, 15,0 a 28,0%; linalol, 4,0 a 6,5%; terpinen-4-ol, 0,2 a 2,5%; timol, 36,0 a 55,0% e carvacrol, 1,0 a 4,0%.

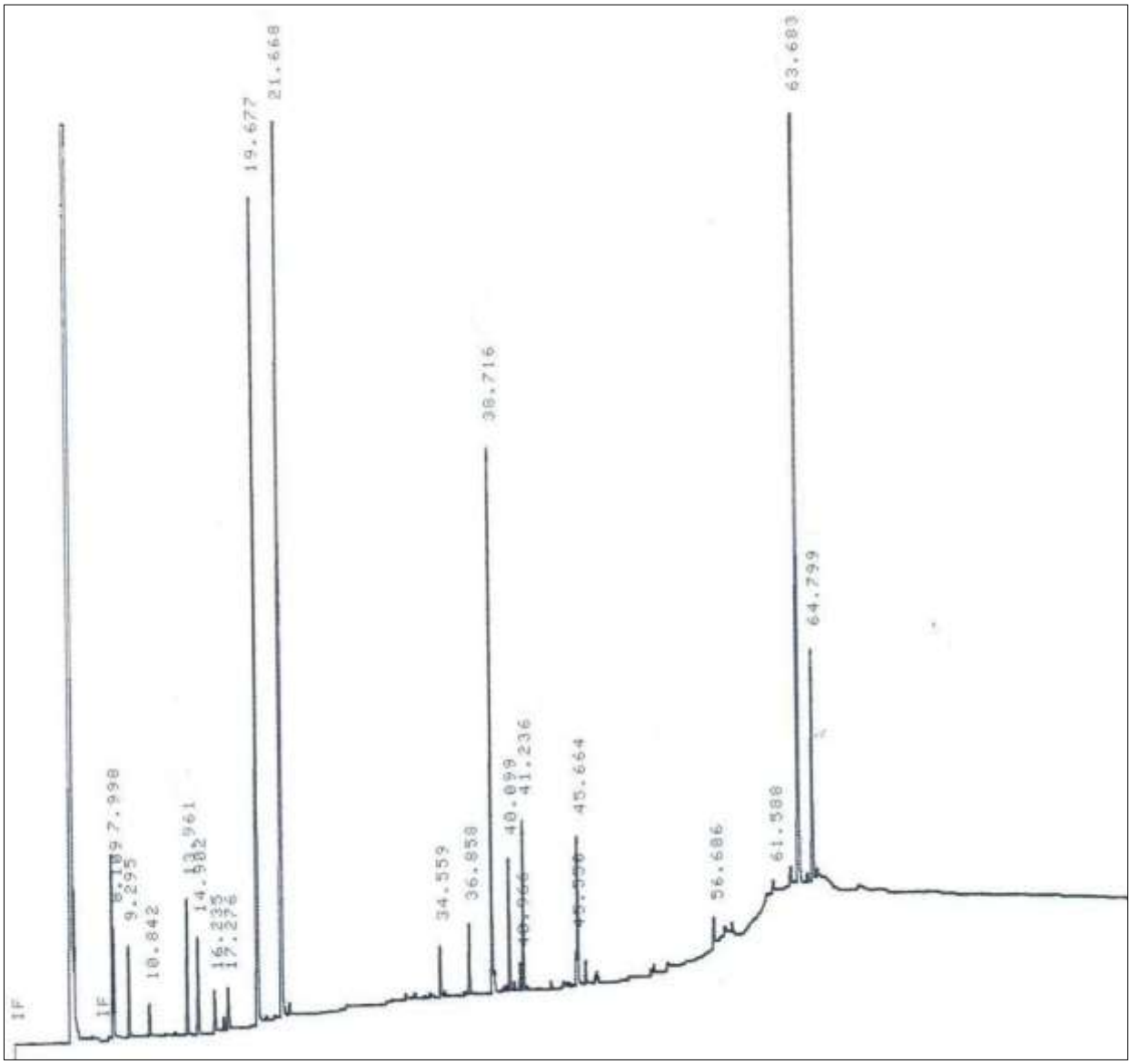


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Thymus vulgaris* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Produtos Biológicos

Brasília
2019

PRODUTOS BIOLÓGICOS

DALTEPARINA SÓDICA	PB001-00
ENOXAPARINA SÓDICA	PB002-00
HEPARINA CÁLCICA	PB003-00
HEPARINA CÁLCICA SOLUÇÃO INJETÁVEL	PB004-00
HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR	PB005-00
HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR SOLUÇÃO INJETÁVEL	PB006-00
HEPARINA SÓDICA BOVINA	PB007-00
HEPARINA SÓDICA SUÍNA	PB008-00
HEPARINA SÓDICA SOLUÇÃO INJETÁVEL	PB009-00
INSULINA	PB010-00
INSULINA HUMANA	PB011-00
INSULINA HUMANA INJETÁVEL	PB012-00
INSULINA HUMANA ISOFANA SUSPENSÃO	PB013-00
INSULINA HUMANA ISOFANA SUSPENSÃO E INSULINA HUMANA INJETÁVEL	PB014-00
INSULINA HUMANA ZINCO SUSPENSÃO	PB015-00
INSULINA HUMANA ZINCO SUSPENSÃO ESTENDIDA	PB016-00
INSULINA INJETÁVEL	PB017-00
INSULINA LISPRO	PB018-00
NADROPARINA CÁLCICA	PB019-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE)	PB020-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTILAQUÉTICO	PB021-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTICROTÁLICO	PB022-00
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE), ANTICROTÁLICO E ANTILAQUÉTICO	PB023-00
SORO ANTIBOTULÍNICO (TRIVALENTE)	PB024-00
SORO ANTICROTÁLICO	PB025-00
SORO ANTIDIFTÉRICO	PB026-00
SORO ANTIELAPÍDICO (BIVALENTE)	PB027-00
SORO ANTIESCORPIÔNICO	PB028-00
SORO ANTILONÔMICO	PB029-00
SORO ANTILOXOSCÉLICO (TRIVALENTE)	PB030-00
SORO ANTIRRÁBICO	PB031-00
SORO ANTITETÂNICO	PB032-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-A PARA USO HUMANO	PB033-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-A,B PARA USO HUMANO	PB034-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-B PARA USO HUMANO	PB035-00
SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-RH (ANTI-D, ANTI-C, ANTI-E, ANTI-C, ANTI-E E ANTI-CW) PARA USO HUMANO	PB036-00
SOROS HIPERIMUNES PARA USO HUMANO	PB037-00
TINZAPARINA SÓDICA	PB038-00
TOXOIDE TETÂNICO ADSORVIDO	PB039-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO ADULTO	PB040-00

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO INFANTIL	PB041-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO E PERTUSSIS	PB042-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB043-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, HEPATITE B (RECOMBINANTE) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB044-00
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB045-00
VACINA BCG	PB046-00
VACINA CAXUMBA (ATENUADA)	PB047-00
VACINA FEBRE AMARELA (ATENUADA)	PB048-00
VACINA HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)	PB049-00
VACINA HEPATITE B (RECOMBINANTE)	PB050-00
VACINA INFLUENZA (ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE, INATIVADA)	PB051-00
VACINA INFLUENZA (FRAGMENTADA, INATIVADA)	PB052-00
VACINA MENINGOCÓCICA ACWY (POLISSACARÍDICA)	PB053-00
VACINA MENINGOCÓCICA C (CONJUGADA)	PB054-00
VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (ATENUADA)	PB055-00
VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA)	PB056-00
VACINA RAIVA (INATIVADA)	PB057-00
VACINA ROTAVÍRUS HUMANO (ATENUADA)	PB058-00
VACINA RUBÉOLA (ATENUADA)	PB059-00
VACINA SARAMPO (ATENUADA)	PB060-00
VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA	PB061-00
VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA E VARICELA (ATENUADA)	PB062-00
VACINA SARAMPO, RUBÉOLA	PB063-00
VACINA VARICELA (ATENUADA)	PB064-00
VACINAS PARA USO HUMANO	PB065-00

DALTEPARINA SÓDICA
Dalteparinum natricum

A dalteparina sódica é um sal sódico de heparina de baixo peso molecular obtida por despolimerização com ácido nitroso da heparina de mucosa intestinal suína. A maioria dos componentes tem uma estrutura de ácido 2-O-sulfo-α-L-idopiranosurônico na extremidade não redutora e uma estrutura de 6-O-sulfo-2,5-anidro-D-manitol na extremidade redutora da sua cadeia.

A dalteparina sódica deve estar em conformidade com a monografia *Heparina de baixo peso molecular* com as modificações e exigências adicionais descritas a seguir.

A massa molecular média relativa varia de 5600 Da a 6400 Da, com um valor característico de cerca de 6000 Da. O grau de sulfatação é de 2,0 a 2,5 sulfatos por unidade dissacarídica. A potência da dalteparina sódica deve ser, no mínimo, 110 UI e, no máximo, 210 UI de atividade antifator Xa por miligrama, em relação à substância dessecada. A atividade do antifator IIa deve ser, no mínimo, 35 UI/mg e, no máximo, 100 UI/mg, em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela atividade antifator IIa deve ser entre 1,9 e 3,2.

A dalteparina sódica deve ser produzida por meio de procedimentos validados de fabricação e purificação sob condições destinadas a minimizar a presença de grupos N-NO. O processo de fabricação deve ter sido validado para reduzir qualquer contaminação por grupos N-NO a limites permitidos utilizando um método validado de quantificação.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*, utilizando a dalteparina sódica SR. Calcular a potência em relação à atividade antifator Xa por miligrama e à atividade antifator IIa. Calcular a razão da atividade antifator Xa para atividade antifator IIa.

B. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. O espectro obtido deve ser similar ao da dalteparina sódica SR.

C. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. Os seguintes requisitos se aplicam: a massa molecular média relativa varia entre 5600 Da e 6400 Da; a porcentagem em massa de cadeias mais baixas do que 3000 Da é, no mínimo, 13,0% (m/m); a porcentagem em massa de cadeias de massas moleculares mais elevadas do que 8000 Da varia entre 15,0% (m/m) e 25,0% (m/m).

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água purificada. A preparação é límpida **(5.2.25)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Nitrito. No máximo 5 ppm. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de dispositivo eletroquímico adequado com as seguintes características e ajustes: um eletrodo de trabalho adequado, um detector de potencial + 1,00

V versus um eletrodo de referência Ag/AgCl e um detector com sensibilidade de 0,1 uA e uma coluna de 125 mm de comprimento e 4,3 mm de diâmetro interno, empacotada com resina de troca iônica (aniônica) forte (10 µm), mantida à 40 ºC, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: solução constituída por 13,61 g de acetato de sódio SQR dissolvido em água purificada. Ajustar o pH para 4,3 com ácido fosfórico SR e diluir para 1000 mL utilizando água purificada.

Nota: *lavar todos os balões volumétricos, pelo menos, três vezes com água purificada antes do preparo das soluções e antes de preparar as Soluções de referência (c), (d) e (e); lavar todas as pipetas com a Solução de referência (b).*

Solução amostra: dissolver 80 mg da amostra em água purificada e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente. Deixar em repouso durante pelo menos 30 minutos.

Solução de referência (a): dissolver 60 mg de nitrito de sódio SQR em água purificada e diluir até 1000 mL com o mesmo solvente.

Solução de referência (b): utilizar uma pipeta previamente lavada com *Solução de referência (a)*. Diluir 1 mL da *Solução de referência (a)* para 50 mL com água purificada.

Solução de referência (c): diluir 1 mL da *Solução de referência (b)* para 100 mL com água purificada (correspondente a 1 ppm de nitrito na amostra).

Solução de referência (d): diluir 3 mL da *Solução de referência (b)* para 100 mL com água purificada (correspondente a 3 ppm de nitrito na amostra).

Solução de referência (e): diluir 5 mL da *Solução de referência (b)* para 100 mL com água purificada (correspondente a 5 ppm de nitrito na amostra).

Procedimento: injetar 100 µL da *Solução de referência (d)*. Quando os cromatogramas são registrados nas condições prescritas, o tempo de retenção para o nitrito é 3,3 a 4,0 minutos. O teste só é válido se: o número de pratos teóricos calculados para o pico de nitrito for de pelo menos 7000 por metro de coluna (a dalteparina sódica irá bloquear os sítios de ligação da fase estacionária, o que resultará em menores tempos de retenção e menor eficiência de separação para o analito; o desempenho inicial da coluna pode ser parcialmente restaurado utilizando 58 g/L de solução de cloreto de sódio SQR, a um fluxo de 1 mL/minuto durante uma hora; após a regeneração, a coluna é lavada com 200 mL a 400 mL de água purificada); o fator de simetria para o pico de nitrito for inferior a 3; o desvio padrão relativo da área de pico para o nitrito obtido a partir de seis injeções for inferior a 3%.

Injetar 100 µL cada uma das *Soluções de referência (c)* e *(e)*. O teste só é válido se: o fator de correlação para uma relação linear entre a concentração e a resposta para as *Soluções de referência (c), (d)* e *(e)* for, no mínimo, 0,995; a relação sinal-ruído para *Solução de referência (c)* for, no mínimo, 5 (se o nível de ruído é demasiado elevado, a recalibração do eletrodo é recomendada); uma injeção em branco de água purificada não der origem a picos espúrios.

Injetar 100 µL da *Solução amostra*. Calcular o teor de nitrito a partir das áreas dos picos no cromatograma obtido com as *Soluções de referência (c), (d)* e *(e)*.

Boro. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado* **(5.2.13.2.2)**. Utilizar comprimento de onda específico para o boro. A linha de emissão a ser utilizada é 249,733 nm. Utilizar um aparelho apropriado, cujas configurações possam ser otimizadas conforme indicação do fabricante. No máximo 1 ppm. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: dissolver 0,25 g da substância a ser analisada em cerca de 2 mL de água, adicionar 100 µL de ácido nítrico SQR e diluir para 10 mL utilizando o mesmo solvente.

Solução de referência (a): preparar uma solução 1% (v/v) de ácido nítrico em água.

Solução de referência (b): preparar uma solução de 11,4 µg/mL de ácido bórico em *Solução de referência (a)*.

Solução de referência (c): dissolver 0,25 g de dalteparina sódica padrão sem boro detectável em cerca de 2 mL de água, adicionar 100 µL de ácido nítrico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução de referência (d): dissolver 0,25 g de dalteparina sódica padrão sem boro detectável em cerca de 2 mL de uma solução de 1% (v/v) de ácido nítrico em água, adicionar 10 µL de uma solução de 5,7 mg/mL de ácido bórico e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. Esta solução contém 1 mg/mL de boro.

Calcular o teor de boro na substância a ser examinado, utilizando fator de correção obtido segundo a expressão:

$$f = \frac{(\text{Padrão}_1 - \text{Padrão}_0) \times 2}{(\text{Padrão}_{cal} - \text{Branco})}$$

em que

Padrão_1 = *Solução de referência (d)*;
Padrão_0 = *Solução de referência (c)*;
Padrão_{cal} = *Solução de referência (b)*;
Branco = *Solução de referência (a).*

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar cerca de 1 g da amostra. Dessecar a amostra a 60 °C sobre pentóxido de fósforo a uma pressão máxima de 670 Pa durante três horas. No máximo 5%.

ENOXAPARINA SÓDICA
Enoxaparinum natricum

A enoxaparina sódica é o sal sódico de uma heparina de baixo peso molecular que é obtida através da despolimerização alcalina do benzil éster da heparina da mucosa intestinal suína. A enoxaparina consiste de um conjunto complexo de oligossacarídeos que ainda não foram completamente caracterizados. Com base no conhecimento atual, a maioria dos componentes tem uma estrutura uronato 4-enopiranose na extremidade não redutora da sua cadeia. 15% a 25% dos componentes têm uma estrutura 1,6-anidro no terminal redutor da sua cadeia.

A enoxaparina sódica deve estar em conformidade com a monografia de *Heparina de baixo peso molecular* com as modificações e exigências adicionais descritas a seguir.

A massa molecular média relativa varia de 3800 Da a 5000 Da, com um valor característico de cerca de 4500 Da. O grau de sulfatação é cerca de dois sulfatos por unidade dissacarídica. A potência deve ser, no mínimo, 90 UI e, no máximo, 125 UI de atividade antifator Xa por miligrama, calculado em relação à substância dessecada. A atividade antifator IIa deve ser, no mínimo, 20,0 UI e, no máximo, 35,0 UI por miligrama, calculada em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela atividade antifator IIa deve estar entre 3,3 e 5,3.

A enoxaparina é produzida por despolimerização alcalina do benzil éster da heparina de mucosa intestinal suína, em condições que resultam em um produto que esteja em conformidade com os requisitos estruturais descritos anteriormente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*, utilizando enoxaparina sódica padrão.

B. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. O espectro obtido deve ser similar ao da enoxaparina padrão.

C. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. Os seguintes requisitos se aplicam: a massa molecular média relativa tem variabilidade de massa entre 3800 Da e 5000 Da; a porcentagem de cadeias de peso molecular inferior a 2000 Da deve variar entre 12,0% e 20,0%; a porcentagem de cadeias com peso molecular entre 2000 Da e 8000 Da deve estar entre 68,0% e 82,0%.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da preparação. A preparação é límpida **(5.2.25)**.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,2 a 7,7. Dissolver 1,0 g da amostra em 10 mL de água livre de dióxido de carbono.

Absorvância específica. 14,0 a 20,0 em relação à substância dessecada, determinado a 231 nm. Dissolver 50,0 mg da amostra em 100 mL de ácido clorídrico 0,01 M.

Conteúdo de álcool benzílico. No máximo 0,1% (m/m). Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 256 nm; pré-coluna de 20 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm); coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 40 °C, fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool metílico, acetonitrila e água (5:15:80).

Solução amostra: dissolver cerca de 0,500 g da amostra em 5,0 mL de hidróxido de sódio 1 *M*. Deixar em repouso à temperatura ambiente durante uma hora. Adicionar 1,0 mL de ácido acético glacial e diluir para 10,0 mL utilizando água.

Solução de referência: preparar solução de 0,25 g/L de álcool benzílico em água. Separar 0,50 mL dessa solução e diluir para 10,0 mL utilizando água.

Procedimento: injetar volumes iguais de *Solução de referência* e *Solução amostra* (20 µL), registrar os cromatogramas e medir a resposta dos picos. Calcular o teor percentual (m/m) de álcool benzílico segundo a expressão:

$$\frac{S_a}{S_r} \times \frac{C_r}{C_a} \times 100$$

em que

S_a = área sob o pico de álcool benzílico da *Solução amostra;*
S_r = área sob o pico de álcool benzílico da *Solução de referência;*
C_r = concentração de álcool benzílico na *Solução de referência* (mg/mL);
C_a = concentração de álcool benzílico na *Solução amostra* (mg/mL).

Sódio. 11,3% a 13,5% em relação à substância dessecada.

HEPARINA CÁLCICA
Heparinum calcicum

A heparina cálcica é uma preparação contendo o sal cálcico de uma mistura de glicosaminoglicanos sulfatados, de peso variável, presente em tecidos de mamíferos. Normalmente é obtida a partir do pulmão bovino ou a partir da mucosa intestinal suína. É composta de polímeros com unidades de *D*-glicosamina (*N*-sulfatada ou *N*-acetilada) e ácido urônico (ácido *L*-idurônico ou *D*-glicurônico) que se alternam unidos por ligações glicosídicas. Possui a propriedade de prolongar o tempo de coagulação sanguínea principalmente pela formação de complexo de alguns dos componentes da mistura com proteínas específicas do plasma potencializando a inativação da trombina (fator IIa). Outras proteases envolvidas no processo de coagulação, como o fator X ativado (fator Xa), também são inibidas. A razão da atividade antifator Xa pela potência do antifator IIa deve estar entre 0,9 e 1,1. A potência da heparina cálcica não deve ser inferior a 180 UI/mg, em relação à substância dessecada. Os animais dos quais a heparina é derivada devem preencher os requisitos sanitários para a espécie em questão e o processo de produção deve garantir a remoção ou inativação de agentes infecciosos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Cumpre com as exigências do *Doseamento*, conforme o método de *Determinação da potência* ou o método de *Potência antifator IIa.*

B. Utilizar a técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear. Preparar as soluções conforme descrito a seguir:

Solução amostra: não menos que 20 mg/mL da amostra em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de trimetilsililpropiônico de sódio.

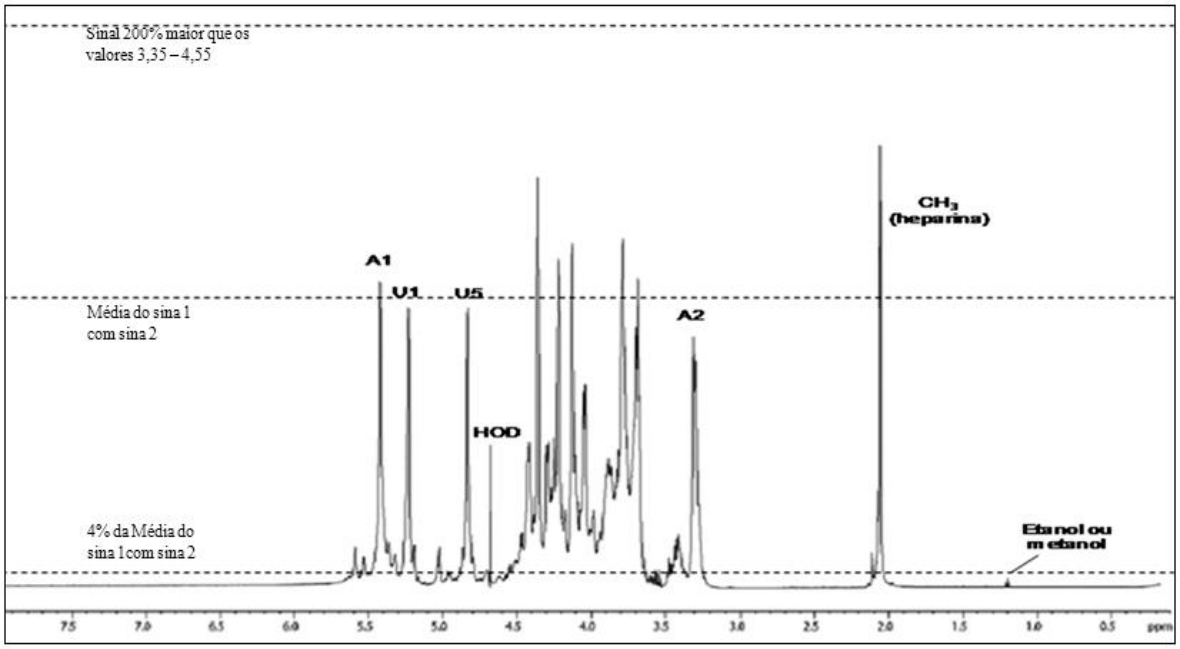
Solução padrão: não menos que 20 mg/mL de heparina cálcica SQR em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de trimetilsililpropiônico de sódio.

Procedimento: na análise das amostras deve-se utilizar um espectrômetro de ressonância magnética nuclear de não menos que 500 MHz operando o pulso (Transformada de Fourier) para aquisição de ^{1}H sob decaimento livre utilizando 16 scans em pulso de 90°. O ensaio deve ser realizado sob a temperatura constante de 25 °C. A janela espectral dever ser no mínimo de 10 a -2 ppm. Para todas as amostras o metil do composto trimetilsililpropiônico deve ser referenciado em 0,00 ppm. Os deslocamentos químicos de quatro regiões típicas da heparina suína são; H1 da glucosamina *N*-acetilada/glucosamina *N*-sulfatada (sinal 1) em 5,40 ppm, H1 do ácido idurônico 2-sulfatado (sinal 2) em 5,21 ppm, H2 da glucosamina *N*-sulfatada em 3,28 ppm e metil da glucosamina *N*-acetilada em 2,05 ppm. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar ± 0,03 ppm.

Os critérios de aceitação são baseados no valor médio da altura dos sinais 1 e 2. Qualquer sinal identificado, nos seguintes campos: 0,10 - 2,00, 2,10 - 3,20 e 5,70 - 8,00 ppm, não devem ultrapassar 4% da média do valor da altura dos dois sinais citados acima. Da mesma forma não devem ser encontrados sinais 200% maiores que este valor entre 3,35 - 4,55 ppm.

Impurezas: sulfato de condroitina sobre-sulfatado. O deslocamento químico da região *N*-acetil do sulfato de condroitina sobre-sulfatado deve ser observado entre 2,13 e 2,19 ppm.

Sulfato de dermatam: O deslocamento químico da região *N*-acetil do sulfato de condroitina sobre-sulfatado deve ser observado entre 2,07 e 2,13 ppm.



C. Utilizar a técnica de cromatografia líquida de troca iônica. A cromatografia de troca iônica é um ensaio para determinação de pureza das preparações de heparina, principalmente para detecção e separação de sulfato de dermatam, sulfato de condroitina e sulfato de condroitina sobre-sulfatado. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 202 nm; pré-coluna de 50 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de ânions (13 mm); coluna de 250 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de ânions (9 mm), mantida a 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,22 mL/minuto.

Padrões de referências: Solução para ensaio (a) e *Solução de referência (a)*, retenção relativa da heparina referência (tempo de retenção = cerca de 26 min); dermatam e sulfato de condroitina = cerca de 0,9; sulfato de condroitina sobresulfatado = 1,3, em relação a heparina.

Nota: *as soluções de referência devem ser estabilizadas por 24 horas a temperatura ambiente.*

Sistema de adequação: Solução de referência; relação de pico e vale: mínimo de 1,3, onde Hp = altura acima da linha de base do pico devido ao dermatam e o sulfato de condroitina; Hv = altura acima da linha de base o ponto mais baixo da curva que separa este cume do pico devido à heparina.

O pico principal no cromatograma obtido com a *Solução de ensaio (a)* deve ser semelhante em forma e tempo de retenção do pico principal no cromatograma obtido com a *Solução de referência (a).*

Preparar as soluções para o teste como descrito a seguir.

Solução para ensaio (a): dissolver cerca de 50 mg da substância para ser examinada pesada com precisão em 5 mL de água para cromatografia (água deionizada com uma resistividade não menos que 0,18 Mohms). Misturar com um vórtice até completa dissolução.

Solução para ensaio (b): dissolver cerca de 0,1 g da substância para ser examinada, pesada com precisão em 1 mL de água para cromatografia. Misturar com um vórtice até completa dissolução.

Misturar 0,5 mL da solução e 0,25 mL de ácido clorídrico *M*, em seguida, adicionar 50 µL de solução de nitrito de sódio a 250 mg/mL. Misture delicadamente e deixe repousar à temperatura ambiente por 40 min antes de adicionar 0,2 mL de hidróxido de sódio *M* para parar a reação.

Solução de referência (a): dissolver 250 mg de heparina SQR em água por cromatografia e diluir para 2 mL com o mesmo solvente. Misturar usando um vórtice até completa dissolução.

Solução de referência (b): adicionar 1,2 mL de *Solução de referência (a)* e 0,3 mL de sulfato de dermatam e sulfato de condroitina sobre-sulfatado. Misturar com um vórtice para homogeneizar.

Solução de referência (c): adicionam-se 0,1 mL de *Solução de referência (b)* e 0,9 mL de água para cromatografia. Misturar com um vórtice para homogeneizar.

Solução de referência (d): adicionar 0,4 mL de *Solução de referência (a)* para 0,1 mL de água para cromatografia e misture com um vórtice. Adicionar 0,25 mL de ácido clorídrico *M*, em seguida, adicionar 50 µL de solução de nitrito de sódio a 250 mg/mL. Misture delicadamente e deixe repousar à temperatura ambiente por 40 minutos antes de adicionar 0,2 mL de hidróxido de sódio *M* para parar a reação.

Solução de referência (e): a 0,5 mL de *Solução de referência (b)*, adicionar 250 µL de ácido clorídrico *M*, em seguida, adicionar 50 µL de solução de nitrito de sódio a 250 mg/mL. Misturar suavemente e deixar repousar em temperatura ambiente por 40 minutos antes de adicionar 0,2 mL de hidróxido de sódio *M* para parar a reação.

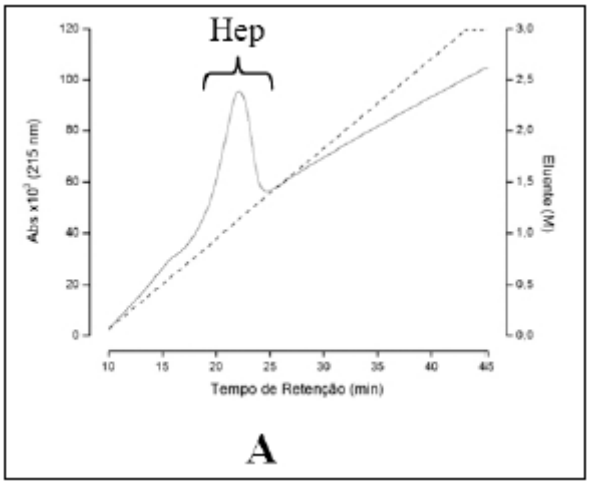
Fase móvel A: dissolver 0,4 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água para cromatografia e ajustar o pH para 3,0 com solução diluída de ácido fosfórico;

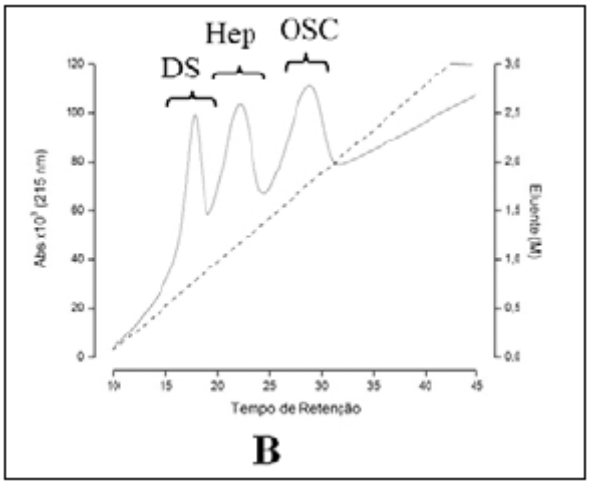
Fase móvel B: dissolver 0,4 g de fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água para cromatografia, adicione 140 g de perclorato de sódio e ajustar ao pH 3,0 com ácido fosfórico diluído, filtrar e desgaseificar.

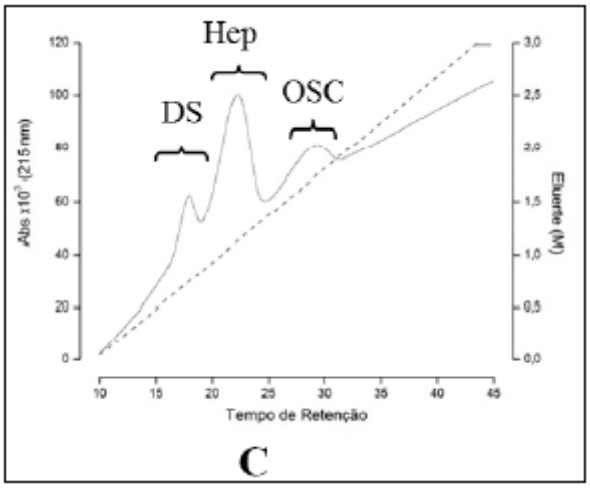
Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	***Fase móvel A% (v/v)***	***Fase móvel B% (v/v)***	***Eluição***
0 - 10	75	25	isocrática
10 - 35	75 → 0	25 → 100	gradiente linear
35 - 40	0	100	isocrática

Procedimento: injetar 20 µL de *Solução de teste (b)* e *Soluções de referência (d)* e *(e)*. A retenção relativa com referência à heparina (tempo de retenção = cerca de 26 minutos): sulfato de dermatam e sulfato de condroitina = cerca de 0,9; sulfato de condroitina sobre-sulfatado = 1,3. Equilíbrio: pelo menos 15 min. A resolução é de no mínimo 3,0 entre os picos relativo ao sulfato de dermatam mais sulfato de condroitina e sulfato de condroitina sobresulfatado no cromatograma obtido com referência. Soma das áreas de sulfato de dermatam e sulfato de condroitina não é maior do que a área sob o pico correspondente no cromatograma obtido com a *Solução de referência (e)* 2,0%. Não podem existir outros picos além do pico relativo à sulfato de dermatam mais sulfato de condroitina e heparina, ou seja, não devem haver impurezas. *Adequação do sistema:* o cromatograma obtido com a *Solução de referência (d)* não apresenta picos no tempo de retenção da heparina. Exemplo:







A – Cromatograma da solução de heparina SQR (Hep).

B – Cromatograma da solução padrão das misturas (DS - dermatam Sulfato – 12%; Hep - Heparina – 44% e OSC – sulfato de condroitina sobre-sulfatado – 54%).

C – Cromatograma de uma amostra reprovada pela presença de sulfato de condroitina sobre-sulfatado (OSC).

D. Responde às reações do íon cálcio **(5.3.1.1)**.

CARACTERÍSTICAS

Características físicas. Pó branco ou quase branco, moderadamente higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 8.0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Proteínas. Adicionar cinco gotas de ácido tricloroacético a 20% (p/v) em 1 mL de solução aquosa da amostra a 1% (p/v). Não deve haver formação de precipitado ou turbidez.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,003%.

Nitrogênio (5.3.3.2). Utilizar o *Método I, macrodeterminação*. No mínimo 1,3% e, no máximo, 2,5% de nitrogênio, calculado em relação à substância dessecada.

Cálcio (5.3.2.7). No mínimo 9,5% e, no máximo, 11,5% de cálcio, calculado em relação à substância dessecada, determinado em 0,2 g por *Titulação complexométrica* **(5.3.3.4)**.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa, sob vácuo, a 60 °C, por 3 horas. No máximo 5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). No mínimo 28% e, no máximo, 41%.

Impurezas nucleotídicas: Dissolver 40 mg em 10 mL de água. A absorvância medida a 260 nm e o resultado não deve ser superior a 0,2.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,03 UE/ UI de heparina.

DOSEAMENTO

Determinação da potência.

A atividade anticoagulante da heparina é determinada *in vitro*, comparando sua habilidade em condições específicas para retardar a coagulação, de um plasma ovino de referência ou plasma humano de referência, citratado e recalcificado com a mesma capacidade de uma preparação de referência de heparina, calibrado em unidades internacionais.

Uma Unidade Internacional é a atividade contida em um montante indicado na norma internacional, que consiste de uma quantidade de heparina cálcica liofilizada obtida de mucosa intestinal de suínos. A equivalência em unidades internacionais do Padrão Internacional de Referência é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A heparina cálcica padrão de referência é calibrada em unidades internacionais, em comparação com um Padrão Internacional por meio do ensaio a seguir.

Realizar o ensaio utilizando registro mecânico da alteração da fluidez na agitação, tendo o cuidado de perturbar o mínimo da solução durante a fase inicial de coagulação (coagulômetro).

Procedimento: Os volumes descritos no texto são apresentados como exemplos e pode ser adaptado para o aparelho utilizado, desde que a relação entre os diferentes volumes seja respeitada. Diluir a heparina cálcica padrão de referência em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de modo a conter um número precisamente conhecido de Unidades Internacionais por mililitro e preparar uma solução da amostra similar à preparação para ser examinada, que deverá ter a mesma atividade. Usando uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), preparar uma série de diluições em progressão geométrica de tal forma que o tempo de coagulação obtido com a menor concentração não seja inferior a 1,5 vezes o tempo de recalcificação em branco, e que sendo obtida a maior concentração seja dada uma curva em logaritmo dose-resposta satisfatória. Colocar 12 tubos em um banho-maria com água gelada, rotulando-os em duplicado: A1, A2 e A3 para as diluições das preparações a serem examinadas e P1, P2 e P3 para as diluições de preparação de referência. Para cada tubo adicionar 1 mL de plasma descongelado substrato e 1 mL de uma diluição adequada da preparação a ser examinada ou a preparação de referência. Após cada adição, misturar, mas não permitir a formação de bolhas. Tratar os tubos na ordem P1, P2, P3, A1, A2, A3, a transferência de cada tubo para um banho-maria a 37 °C, permite equilibrar a 37 °C por aproximadamente 15 minutos e adicionar a cada tubo 1 mL de uma diluição de cefalina ao qual foi adicionado um ativador adequado, tais como caolim de modo que um tempo de recalcificação adequado obtido no branco não é superior a 60 segundos. Quando o caolim é utilizado, deve ser preparado imediatamente antes do uso, uma mistura de volumes iguais de cefalina e de suspensão de caolim a 0,4% (p/v) protegido da luz em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v). Exatamente depois de 2 minutos adicionar 1 mL de uma solução de cloreto de cálcio a 3,7 g/mL e registrar o tempo de coagulação e o intervalo em segundos entre esta última adição e o início da coagulação determinado pela técnica escolhida. Determinar o tempo de recalcificação do branco no início e no final do processo de uma forma similar, utilizando 1 mL de uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) no lugar de uma das diluições da heparina. Os dois valores obtidos no branco não devem diferenciar significativamente. Transforme o tempo de coagulação em logaritmos, utilizando o valor médio para os tubos em duplicatas. Repita o procedimento com diluições a fresco e realizar a incubação na ordem A1, A2, A3, P1, P2, P3. Calcular os resultados através dos métodos estatísticos habituais. Realizar de não menos de três ensaios independentes. Para cada ensaio preparar novas soluções de referência e a preparação para ser examinada e usar outro, recentemente descongelada porção de plasma. Realizar o ensaio de heparina. A potência estimada deve ser de não menos de 90% e não mais de 111% da potência declarada. Os limites de confiança da potência estimada devem ser não inferiores a 80% e não superiores a 125% da potência declarada (P = 0,95).

Potência antifator IIa.

Tampão pH 8,4: dissolver 6,1 g de trometamina, 10,2 g de cloreto de sódio, 2,8 g de edetato dissódico e, se necessário, entre 0 e 10 g de polietilenoglicol 6000 e/ou 2 g de albumina bovina em 800 mL de água. Ajuste com ácido clorídrico a um pH de 8,4, e diluir com água até 1000 mL.

Nota: *2 g de albumina humana podem ser substituídos por 2 g de albumina bovina.*

Solução Antitrombina: reconstituir um frasco de antitrombina em água até obter uma solução de 5 UI/ mL antitrombínica. Diluir com *Tampão pH 8,4* para obter uma solução a uma concentração de 0,125 UI/mL antitrombínica.

Solução de trombina humana: reconstituir a trombina humana (Fator IIa) em água para dar 20 UI/mL de trombina, e diluir com *Tampão pH 8,4* para obter uma solução com uma concentração de 5 UI/mL de trombina.

Nota: *a trombina deve ter uma atividade específica não menor que 750 UI/mg.*

Solução de substrato cromogênico: preparar uma solução de um substrato da trombina adequado para o ensaio cromogênico amidolítico em água para obter uma concentração de 1,25 *mM*.

Solução de parada: preparar uma solução de ácido acético a 20% (v/v) em água.

Soluções padrão: reconstituir o conteúdo total do uma ampola de heparina de cálcio SQR em água e diluir com *Tampão pH 8,4* para obter pelo menos quatro diluições entre o intervalo de concentração de 0,005 e 0,03 unidade/ mL de heparina.

Soluções de amostra: proceder como indicado nas soluções para obter as concentrações de heparina de cálcio similar aos obtidos para as *Soluções padrão.*

Para cada diluição da *Solução padrão* ou da *Solução da amostra* devem ser realizadas em duplicatas. Rótulos numéricos devem ser colocados dependendo do número de repetições a serem testadas. Por exemplo: se houver cinco brancos a serem usados B1, B2, B3, B4 e B5; A1, A2, A3 e A4 para cada duplicada das amostras em testes e P1, P2, P3 e P4 para cada duplicada das soluções padrões em teste. Distribuir os espaços em branco sobre a série de tal maneira que representam com precisão o comportamento dos reagentes durante os experimentos.

Nota: *Os tubos devem ser tratados na ordem B1, P1, P2, P3, P4, B2, A1, A2, A3, A4, B3, A1, A2, A3, A4, B4, P1, P2, P3, P4, B5.*

Notar que, após cada adição de reagente, a solução incubada deve ser misturada sem permitir a formação de bolhas. Adicione duas vezes o volume (100 - 200 µL) de solução Antitrombina a cada tubo contendo um volume (50-100 µL), de *Tampão pH 8,4* ou uma diluição apropriada das soluções de amostra ou o padrão. Agitar, mas não permitir a formação de bolhas, incubar a 37 °C por pelo menos 1 minuto. Adicionar a cada tubo de 25-50 µL de *Solução de trombina humana*, e incubar por pelo menos 1 minuto. Adicionar 50 - 100 µL de *Solução de substrato cromogênico*. Notar que todos os reagentes, soluções padrão, e soluções de amostra devem ser pré-aquecidas a 37 °C pouco antes de usar.

Dois diferentes tipos de medições podem ser registrados:

Medição "endpoint": Parar a reação pelo menos após 1 minuto com 5-10 µL de *Solução de parada*. Medir a absorvância de cada solução a 405 nm através de um espectrofotômetro adequado. Um desvio padrão relativo sobre as leituras em branco tem que ser menor que 10%.

Medição Cinética: Seguindo a mudança na absorvância para cada solução sobre 1 minuto a 405 nm através de um espectrofotômetro. Calcular a variação de absorvância por minuto (ΔOD/minuto). Os brancos para a medição cinética também são expressos como ΔOD/minuto e devem dar valores maiores em que são realizadas na ausência de heparina. O desvio padrão relativo sobre as leituras em branco deve ser inferior a 10%.

Os modelos estatísticos para análise da relação ente inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: Para cada série, calcular a regressão da absorvância ou mudança de absorvância por minuto contra as concentrações em logaritmo das soluções de amostra e das soluções

padrões e calcular a potência da heparina de cálcio de referência em Unidades/mL utilizando métodos estatísticos para ensaios linha paralela. Exprimir a potência de heparina cálcica UI/mg de base seca.

Relação entre Inclinação das Retas: Para cada série, calcular a regressão da absorvância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da heparina de cálcio de referência Unidades/mL utilizando métodos estatísticos para ensaios de relações entre inclinações. Exprimir a potência de heparina cálcica em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: A potência da heparina cálcica, calculada em base seca, é não é inferior a 180 unidades de heparina por mg.

Atividade antifator Xa.

Tampão pH 8,4: dissolver 10,24 g de cloreto de sódio, 6,6 g de trometamina e 2,8 g de edetato dissódico em água. Se necessário, ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução antitrombina: reconstituir o conteúdo de uma ampola contendo antitrombina com água (ou conforme recomendado pelo fabricante). Diluir com *Tampão pH 8,4* de modo a obter solução a 1 UI de antitrombina por mL.

Solução de fator Xa bovino: reconstituir o conteúdo de uma ampola contendo fator Xa bovino com água (ou conforme recomendado pelo fabricante). Diluir a solução obtida em *Tampão pH 8,4*, de modo a obter uma solução com valores de absorvância entre 0,65 e 1,25 medidas em 405 nm, quando testadas conforme descrito abaixo, mas utilizando 30 µL de *Tampão pH 8,4* ao invés de 30 µL de *Solução padrão* ou *Solução amostra*.

A solução de fator Xa contem três unidades nano catalíticas por mL, mas pode variar dependendo do fabricante do factor Xa, ou o substrato utilizado.

Solução de substrato cromogênico: preparar uma solução cromogênica adequada para o teste amidolítico específico para fator Xa em água para obter uma concentração de cerca de 1 *mM*.

Solução de parada: preparar uma solução de ácido acético a 20% (v/v) em água.

Solução amostra: dissolver quantidade exata da amostra de heparina cálcica em *Tampão pH 8,4* e diluir com o mesmo para obter soluções contendo atividades aproximadamente iguais à *Solução Padrão*.

Solução padrão: utilizar padrão oficial de heparina. Pode ser utilizada outra preparação, cuja potência tenha sido calibrada frente ao padrão oficial. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina padrão oficial em água e misturar levemente até completa dissolução. Preparar diluições em *Tampão pH 8,4*, de forma a obter de cinco até sete soluções contendo atividades conhecidas de 0,375; 0,3125; 0,25; 0,188; 0,125; 0,0625 e 0,0313 em unidades de heparina por mL.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo a relação entre os volumes. Executar o teste com cada *Solução padrão* e *Solução amostra* em duplicata. Para cada série de tubos plásticos em banho-maria a 37 °C, transferir 120 µL de *Tampão pH 8,4*. Separadamente transferir 30µL de diferentes diluições de soluções padrão ou de soluções amostra aos tubos. Adicionar 150 µL, para cada tubo, misturar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL de *Solução substrato cromogênico*, pré aquecido a 37 °C por 15 minutos.

Adicionar 150 µL de *Solução de parada* em cada tubo e misturar. Preparar o branco para zerar o espectrofotômetro adicionando os reagentes em ordem inversa, começando com *Solução de parada* e terminando com a adição de 150 µL de *Tampão pH 8,4*, e excluindo as soluções padrão ou as soluções amostra. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco.

Construir um gráfico dos valores das absorvâncias das *soluções padrão* e as *soluções amostra* contra as concentrações de heparina em unidades. Construir retas separadas de melhor ajuste utilizando análise de regressão linear dos mínimos quadrados para as soluções padrão e as soluções amostra e determinar a inclinação de cada reta de regressão. Calcular a potência da heparina cálcica pela fórmula.

$$P \times \left(\frac{AS}{SP} \right)$$

em que

P = potência do padrão de referência da heparina cálcica*;*
SA e *SP* = são as inclinações das retas a partir das *Soluções amostra* e das *Soluções padrão*, respectivamente.

$$\left(\frac{\text{atividade anti-fator Xa}}{\text{potência anti-fator IIa}} \right)$$

Expressar a potência do antifator Xa da solução amostra como uma porcentagem da concentração de heparina determinada no Ensaio. Calcular a razão do antifator Xa contra potência do fator IIa pela fórmula. A razão entre atividade do antifator Xa com potência antifator IIa deve ser no mínimo, 0,9 e no máximo 1,1.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conforme legislação vigente.

ROTULAGEM

Conforme legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

HEPARINA CÁLCICA SOLUÇÃO INJETÁVEL

A heparina cálcica injetável é uma solução estéril de heparina cálcica dissolvida em água para injeção. Ela exibe uma potência de, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da potência indicada no rótulo em termos de unidades internacionais de heparina por mL.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,03 UE/UI de heparina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Heparina sódica, solução injetável*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes para dose única ou multidose, em vidros tipo I.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR
Heparinum massae molecularis minoris

As heparinas de baixo peso molecular são preparações que contêm uma mistura de cadeias polissacarídicas de peso molecular variado. Por definição, as heparinas de baixo peso molecular devem apresentar peso molecular médio menor que 8000 Da e, para isso, é necessário que no mínimo 60% da massa total apresente peso molecular menor que 8000 Da. São obtidas através do fracionamento ou despolimerização da heparina suína. As heparinas de baixo peso molecular apresentam diferenças estruturais químicas nos terminais redutores ou não redutores da cadeia polissacarídica decorrentes do método de fracionamento utilizado. A atividade anticoagulante decorre da inibição de diversos fatores da cascata de coagulação, prolongando o tempo de coagulação do sangue. Isso ocorre principalmente através da potencialização da inativação do fator Xa. A potência anticoagulante é, no mínimo, 80 e, no máximo, 125 unidades de atividade antifator Xa por miligrama, em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela atividade antifator IIa deve ser, no mínimo, 1,5. Os animais dos quais a heparina é derivada devem preencher os requisitos sanitários para a espécie em questão e o processo de produção deve garantir a remoção ou inativação de agentes infecciosos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Cumpre as exigências descritas em *Doseamento*, segundo os métodos de *Atividade antifator Xa* e de *Atividade antifator IIa.*

B. Utilizar a técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear unidimensional de próton. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Solução padrão: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL da heparina de baixo peso molecular utilizada como padrão interno em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiônico de sódio.

Solução amostra: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL da amostra em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiônico de sódio.

Procedimento: na análise das amostras deve-se utilizar um espectrômetro de ressonância magnética nuclear de, no mínimo, 500 MHz operando o pulso (Transformada de Fourier) para aquisição de ^{1}H sob decaimento livre utilizando 16 scans em pulso de 90°. O ensaio deve ser realizado sob a temperatura constante de 25 °C e um programa de supressão de água. A janela espectral dever ser no mínimo de 10 a -2 ppm. Para todas as amostras, o grupo metila do composto trimetilsililpropiônico deve ser referenciado em 0,00 ppm. Os espectros obtidos devem ser similares ao da heparina de baixo peso molecular específica de referência.

O espectro da amostra deve ser semelhante ao do padrão. Não deve ser observado o deslocamento químico entre 2,13 e 2,16 ppm, correspondente às regiões *N*-acetil.

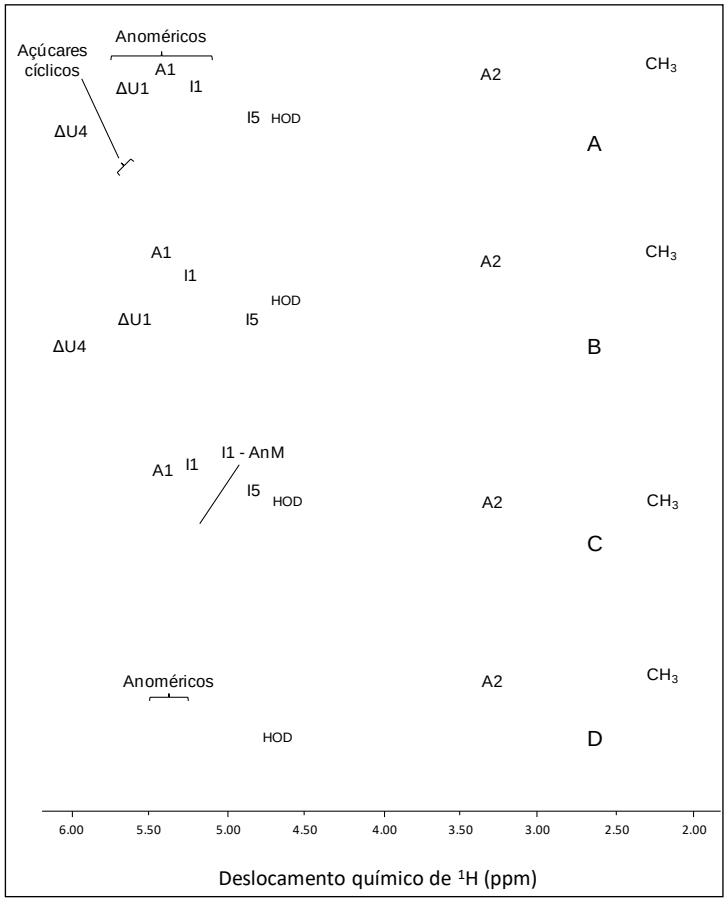


Figura 1 - Espectros de RMN 1D de ^{1}H de quatro tipos diferentes de heparina de baixo peso molecular.

Painel A – enoxaparina; Painel B – tinzaparina; Painel C – dalteparina; Painel D – nadroparina. Os sinais designados como A1 e A2 correspondem ao H1 e H2 das unidades de α-glucosamina 6- e N-disulfatadas; Os sinais I1 e I5 correspondem ao H1 e H5 do ácido α-idurônico 2- sulfatado; □U1 e □U4 correspondem ao H1 e H4 do ácido urônico 4,5 insaturado e 2- sulfatado. Os sinais referentes aos açúcares cíclicos (N-sulfatada, 1,6 anidro β-glucosamina ou β-manosamina) também estão indicados nos painéis. HOD – água deuterada.

C. Utilizar a técnica de cromatografia de filtração em gel para determinação da distribuição de peso molecular dos oligossacarídeos presentes na solução de heparina de baixo peso molecular. Utilizar cromatografia líquida de alta eficiência provida com detector de índice de refração e leitor ultravioleta a 234 nm; uma pré-coluna de 6,0 mm de diâmetro x 4,0 cm de altura, empacotada com matriz de sílica de 7 μm de diâmetro e duas colunas analíticas em série, de 7,5 mm de diâmetro x 30 cm de altura, empacotadas com matriz de sílica de 5 μm ou 10 μm que fraciona proteínas na faixa de aproximadamente 10 000 a 500 000 Da. Mínimo de 20 000 pratos teóricos por metro. Fluxo da fase móvel de 0,3 mL/minuto.

Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Fase móvel: solução de acetato de amônio 0,1 *M*, pH 6,0.

Solução padrão de calibração de peso molecular para heparinas de baixo peso molecular: solubilizar a amostra de heparina de baixo peso molecular padrão para calibração de peso molecular na concentração de 10 mg/mL na fase móvel no momento de realizar o ensaio.

Solução amostra: solubilizar a amostra-teste na concentração de 10 mg/mL na fase móvel.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução padrão* para determinação do perfil de eluição do padrão de calibração e, posteriormente, injetar 20 µL da amostra-teste para comparação com o perfil de eluição da *Solução padrão.*

Calibração: para a detecção, usar um detector de índice de refração conectado em série a um leitor de ultravioleta a 234 nm. É necessário medir o tempo decorrido entre a detecção dos dois leitores cuidadosamente, para que ambos os cromatogramas estejam alinhados corretamente. O tempo de retenção utilizado para os cálculos de calibração deve ser o tempo do detector de índice de refração (RI).

Deve-se calcular um fator de normalização para determinar a massa molecular relativa proveniente da razão RI/UV da seguinte maneira: calcule a área total sob a curva de UV_{234} ($\sum UV_{234}$) e sob a curva de RI ($\sum RI$) através de integração numérica da área de interesse (excluindo picos de sal e solventes no final do cromatograma). Calcular a razão *r* utilizando a seguinte expressão:

$$r = \frac{\sum RI}{\sum UV_{234}}$$

Calcular o fator *f* usando a expressão a seguir:

$$f = \frac{M_{na}}{r}$$

Em que

M_{na} = massa molecular relativa média do padrão de heparina de baixo peso molecular para calibração CRS determinado pelo fabricante.

Certificar que as respostas de UV_{234} e RI estão alinhadas e calcular a massa molecular relativa (M) de cada ponto usando a seguinte expressão:

$$M = f\frac{RI}{UV_{234}}$$

A tabela resultante de tempos de retenção e massa molecular relativa de cada ponto deve ser utilizada para derivar uma calibração para o sistema de cromatografia criando uma relação matemática para os valores tabelados. Recomenda-se traçar uma curva polinomial de 3º grau. Extrapolar os valores desta curva de calibração traçada para valores de massas moleculares mais elevados não é válido.

Injetar 20 µL da *Solução amostra* e registrar o cromatograma pelo período de tempo necessário para a completa eluição da amostra e dos picos de solventes.

A massa molecular relativa média é definida pela fórmula:

$$\frac{\sum (\mathrm{RI}_i M_i)}{\sum \mathrm{RI}_i}$$

em que

RI_i = massa da substância que elui na fração *i*;
M_i = massa molecular relativa correspondente à fração *i*.

Os valores de massa molecular relativa média devem ser, no máximo, 8000 e pelo menos 60% da massa total deve ter uma massa molecular relativa menor que 8000. Além disso, os parâmetros de massa molecular (massa molecular relativa média e porcentagem das cadeias compreendidas dentro de valores específicos) devem corresponder à preparação referência.

Comparar o tempo de retenção dos picos da amostra-teste com os picos oriundos da amostra padrão. O critério de validação ocorre caso os picos da amostra-teste correspondam aos picos da amostra padrão.

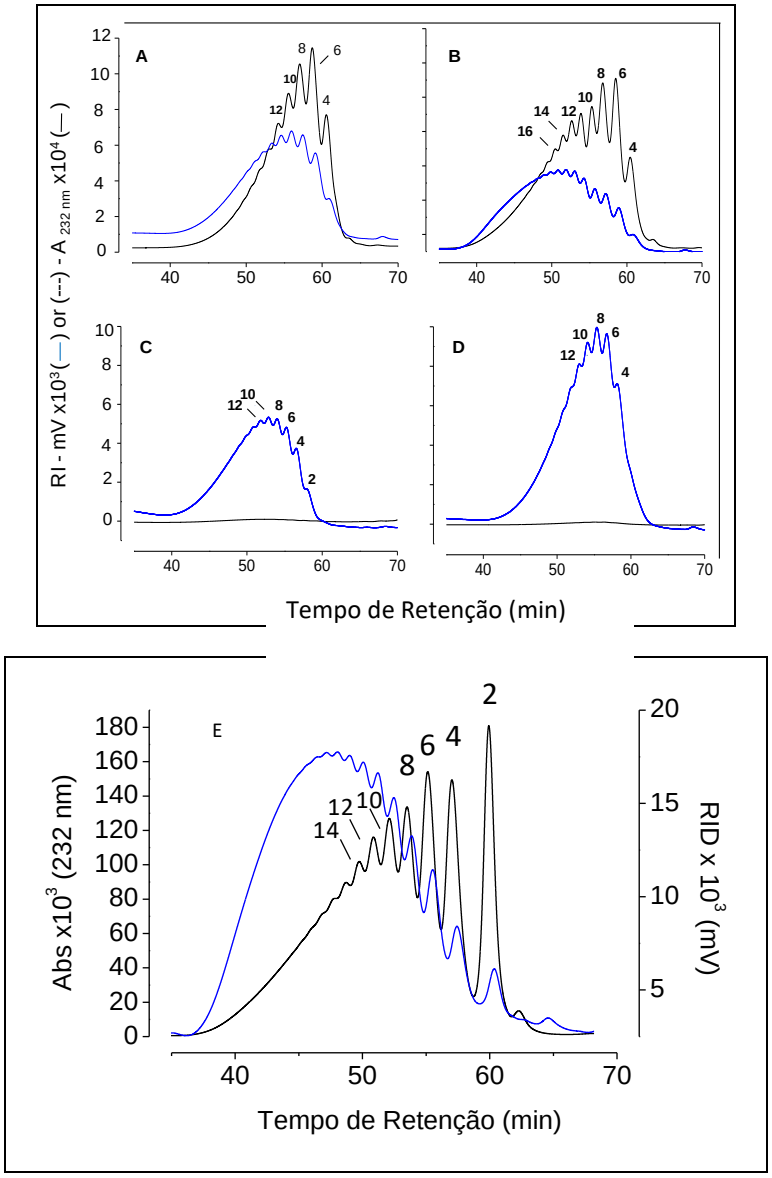


Figura 2 – Perfil de eluição das diferentes heparinas de baixo peso molecular pelo método de cromatografia de gel filtração.

Análise da distribuição de pesos moleculares dos oligossacarídeos encontrados em diferentes preparações de LMWH. Preparações de enoxaparina (A), tinzaparina (B), dalteparina (C), nadroparina (D) e padrão de calibração de peso molecular (E). Os números representam as unidades dissacarídicas (2– dissacarídeo, 4– tetrassacarídeo, 6- hexassacarídeo, 8- octassacarídeo, 10- decassacarídeo, 12- dodecassacarídeo).

CARACTERÍSTICAS

Características físicas. Pó branco ou quase branco, higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,5 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Proteínas. Adicionar cinco gotas de ácido tricloroacético a 20% (p/v) em 1 mL de solução aquosa da amostra a 1% (p/v). Não deve haver formação de precipitado ou turbidez.

Impurezas nucleotídicas. Dissolver 40 mg do material em 10 mL de água. A absorvância medida a 260 nm e 280 nm deve ser, no máximo, 0,20 e 0,15, respectivamente.

Nitrogênio (5.3.3.2). Utilizar o *Método I, macrodeterminação*. No mínimo 1,5% e, no máximo, 2,5% de nitrogênio, calculado em relação à substância dessecada.

Sódio. Entre 10,5% e 13,5% de sódio determinado conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Ensaio de identificação C*. Preparar a solução de referência utilizando 1,5 mL de solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb). 0,5 g em conformidade com o teste de C. No máximo 30 ppm.

Perda por dessecação (5.2.9.1). No máximo 10%, determinado a partir de 1000 g em estufa a vácuo a 60 ºC, por três horas, em pressão que não exceda 0,67 kPa.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,01 UE por UI de atividade anti-Xa de heparina de baixo peso molecular.

DOSEAMENTO

Atividade antifator Xa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano para obter concentração de 20 m*M*, cloreto de sódio para 150 m*M* e cloreto de cálcio para 10 m*M* em água destilada contendo polietilenoglicol 8000 a 0,1%. Se necessário, ajustar o pH para 7,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina humana conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar. Diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 0,02 UI/mL (equivalente a 40 n*M*) de antitrombina humana.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 1,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*) de fator Xa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator Xa: dissolver quantidade de *N*-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-*p*-nitroanilina diidrocloridratado em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Solução de parada: preparar uma solução a 50% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: utilizar solução padrão de heparina de baixo peso molecular. Pode ser utilizada outra preparação, cuja potência tenha sido determinada em relação ao padrão. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina de baixo peso molecular conforme recomendado pelo fabricante e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de forma a obter pelo menos cinco soluções com concentração variando entre 0,2 e 0,005 UI/mL de atividade anti-Xa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da *Solução padrão*.

Procedimento: dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo constante a relação entre os volumes. Executar o teste em microplacas e realizar a leitura espectrofotométrica a 405 nm em um leitor de microplacas a 37 °C. O ensaio deve ser realizado com cada *Solução padrão* e *Solução amostra* em duplicata. Em cada poço da microplaca, adicionar 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* ou da *Solução amostra*, 25 µL da *Solução de antitrombina humana* e 10 µL da *Solução de fator Xa humano*. Após dois minutos de incubação a 37°C, adicionar 25 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator Xa*. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco durante cinco minutos. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina de baixo peso molecular, utilizando 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*.

Medição "enpoint": proceder como descrito na *Medição cinética*. Após a adição do substrato cromogênico, esperar quatro minutos e parar a reação com a adição de 50 µL de *Solução de parada*.

Os modelos estatísticos para análise da relação entre inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, calcular a regressão da absorvância ou mudança de absorvância por minuto contra as concentrações em logaritmo das *Soluções amostra* e das *Soluções padrões* e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina de baixo peso molecular em UI/mg.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, calcular a regressão da absorvância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das *Soluções amostra* e das *Soluções padrões* e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina de baixo peso molecular em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: a potência das heparinas de baixo peso molecular deve apresentar, no mínimo, 80 e, no máximo, 125 da atividade antifator Xa por mg.

Atividade antifator IIa

Proceder conforme descrito em *Atividade antifator Xa*, com exceção da *Solução de fator Xa humano* que deve ser trocada por *Solução de fator IIa humano* e da *Solução de substrato cromogênico* N-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-p-nitroanilina diidrocloridratado que deve ser trocada pela *Solução de substrato cromogênico* H-D-fenilalanina-L-arginina-p-nitroanilina diidrocloridrato. O tampão a ser utilizado nesse ensaio é *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, porém sem adição de cloreto de cálcio. Preparar a *Solução de fator IIa humano* e a *Solução de substrato cromogênico para fator IIa* como descrito a seguir.

Solução de fator IIa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* sem adição de cloreto de cálcio, de modo a obter solução a 2,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*) de fator IIa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator IIa: dissolver quantidade de H-D-fenilalanina-L-arginina-*p*-nitroanilina diidrocloridrato em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Proceder com as análises estatísticas e cálculos indicados em *Atividade antifator Xa*.

Critérios de aceitação: a razão da atividade antifator Xa/antifator IIa deve ser, no mínimo, 1,5.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR SOLUÇÃO INJETÁVEL

As preparações injetáveis de heparina de baixo peso molecular são soluções estéreis de heparina de baixo peso molecular diluída em água para injeção. A potência anticoagulante é, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da potência anti Xa declarada no rótulo em unidades por mililitro. A razão da atividade antifator Xa/antifator IIa deve ser observada de acordo com o tipo de solução de heparina de baixo peso molecular analisada. A enoxaparina apresenta uma faixa de variação da razão atividade antifator Xa/antifator IIa entre 3,3 e 5,3. Para a tinzaparina a razão varia entre 1,5 e 2,5. A dalteparina apresenta razão entre 1,9 e 3,2 e a nadroparina entre 2,5 e 4,0.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,01 UE/UI de heparina de baixo peso molecular.

DOSEAMENTO

Atividade antifator Xa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano para obter concentração de 20 m*M*, cloreto de sódio para 150 m*M* e cloreto de cálcio para 10 m*M* em água destilada contendo polietilenoglicol 8000 a 0,1%. Se necessário, ajustar o pH para 7,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina humana conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar. Diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 0,02 UI/mL (equivalente a 40 n*M*) de antitrombina humana.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 1,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*) de fator Xa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator Xa: dissolver quantidade de *N*-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-Larginina-*p*-nitroanilina diidrocloridratado em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Solução de parada: preparar uma solução a 50% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: utilizar solução padrão de heparina de baixo peso molecular. Pode ser utilizada outra preparação, cuja potência tenha sido determinada em relação ao padrão. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina de baixo peso molecular conforme recomendado pelo fabricante e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de forma a obter pelo menos cinco soluções com concentração variando entre 0,2 e 0,005 UI/mL de atividade anti-Xa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da *Solução padrão*.

Procedimento: dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo constante a relação entre os volumes. Executar o teste em microplacas e realizar a leitura espectrofotométrica a 405 nm em um leitor de microplacas a 37 °C. O ensaio deve ser realizado com cada *Solução padrão* e *Solução amostra* em duplicata. Em cada poço da microplaca, adicionar 40 µL de *T*ampão *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* ou da solução amostra, 25 µL da *Solução de antitrombina humana* e 10 µL da *Solução de fator Xa humano*. Após dois minutos de incubação a 37 °C, adicionar 25 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator Xa*. Registrar a absorbância medida em 405 nm contra o branco durante cinco minutos. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina de baixo peso molecular, utilizando 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*.

Medição "endpoint": proceder como descrito na *Medição cinética*. Após a adição do substrato cromogênico, esperar quatro minutos e parar a reação com a adição de 50 µL de *Solução de parada*.

Os modelos estatísticos para análise da relação ente inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, calcular a regressão da absorbância ou mudança de absorbância/minuto contra as concentrações em logaritmo das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da heparina sódica de referência em UI/mL utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina de baixo peso molecular em UI/mL.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, calcular a regressão da absorbância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da heparina de baixo peso molecular padrão em UI/mL utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência de heparina de baixo peso molecular em UI/mL.

Critérios de aceitação: a potência das preparações injetáveis de heparina de baixo peso molecular deve apresentar, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da atividade declarada no rótulo. A potência deve ser expressa em UI/mL.

Atividade antifator IIa

Proceder conforme descrito em *Atividade antifator Xa,* com exceção da *Solução de fator Xa humano* que deve ser trocada por *Solução de fator IIa humano* e da *Solução de substrato cromogênico* N-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-p-nitroanilina diidrocloridratado que deve ser trocada pela *Solução de substrato cromogênico* H-D-fenilalanina-L-arginina-p-nitroanilina diidrocloridrato. O tampão a ser utilizado nesse ensaio é *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4,*

porém sem adição de cloreto de cálcio. Preparar a *Solução de fator IIa* e a *Solução de substrato cromogênico* como descrito a seguir.

Solução de fator IIa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4 sem adição de cloreto de cálcio*, de modo a obter solução a 2,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*) de fator IIa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator IIa: dissolver quantidade de H-D-fenilalanina-L-arginina-p-nitroanilina diidrocloridrato em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Proceder com as análises estatísticas e cálculos indicados em *Atividade antifator Xa*.

Critérios de aceitação: a potência das preparações injetáveis de heparina de baixo peso molecular deve apresentar, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da atividade declarada no rótulo. A potência deve ser expressa em UI/mL. A razão da atividade antifator Xa/antifator IIa deve ser observada de acordo com o tipo de solução de heparina de baixo peso molecular analisada. A enoxaparina apresenta uma faixa de variação da razão atividade antifator Xa/antifator IIa entre 3,3 e 5,3. Para a tinzaparina, a razão varia entre 1,5 e 2,5. A dalteparina varia entre 1,9 e 3,2 e a nadroparina entre 2,5 e 4,0.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

HEPARINA SÓDICA BOVINA

A heparina sódica bovina é extraída a partir da mucosa intestinal bovina e contém cadeias polissacarídicas heterogêneas e de peso molecular variado. É composta em sua maioria por unidades de α-D-glucosamina N,6 sulfato e ácido idurônico 2-O-sulfato. As unidades de α-D-glucosamina apresentam padrão mais heterogêneo de sulfatação em comparação com a heparina suína. Em especial observamos maior proporção de unidades de α-glucosamina não sulfatada na posição 6. Possui atividade anticoagulante pela inibição de diversos fatores do sistema de coagulação, prolongando o tempo de coagulação do sangue. Isso ocorre principalmente por meio da potencialização da inativação do fator Xa e da trombina pela antitrombina. Contém, no mínimo, 100 unidades de atividade antifator IIa por mg de heparina, respectivamente, em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela atividade antifator IIa deve estar entre 0,9 e 1,1. Como critério de aceitação para cada ensaio realizado para a atividade antifator IIa e Xa, a potência calculada com base no peso seco deve estar compreendida entre 90 e 110% da potência declarada. Os animais dos quais a heparina é extraída devem preencher os requisitos sanitários para a espécie em questão e o processo de produção deve garantir a remoção ou inativação de agentes infecciosos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Cumpre as exigências descritas em *Doseamento,* segundo os *métodos I* ou *II* de **Atividade antifator Xa** e de **Atividade antifator IIa**.

B. Utilizar a técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear unidimensional de próton. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Solução padrão: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL de heparina (SQR) em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiônico de sódio. Pode ser utilizado um padrão interno de referência de heparina de mucosa intestinal bovina.

Solução para adequação do sistema: preparar solução a 1% (p/p) de condroitina sulfato supersulfatado SQR em *Solução padrão*.

Solução amostra: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL da amostra em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiônico de sódio.

Procedimento: na análise das amostras deve-se utilizar um espectrômetro de ressonância magnética nuclear de, no mínimo, 500 MHz, tempo de aquisição mínimo de 2 segundos, tempo de repetição (tempo de espera mais tempo de aquisição) mínimo de 4 segundos. O ensaio deve ser realizado sob a temperatura constante de 35 °C com um programa de supressão de água. A janela espectral deve ser, no mínimo, de 10 a -2 ppm. Para todas as amostras, o grupo metila do composto trimetilsililpropiônico deve ser referenciado em 0,00 ppm. Os espectros obtidos devem ser similares ao da *Solução padrão*.

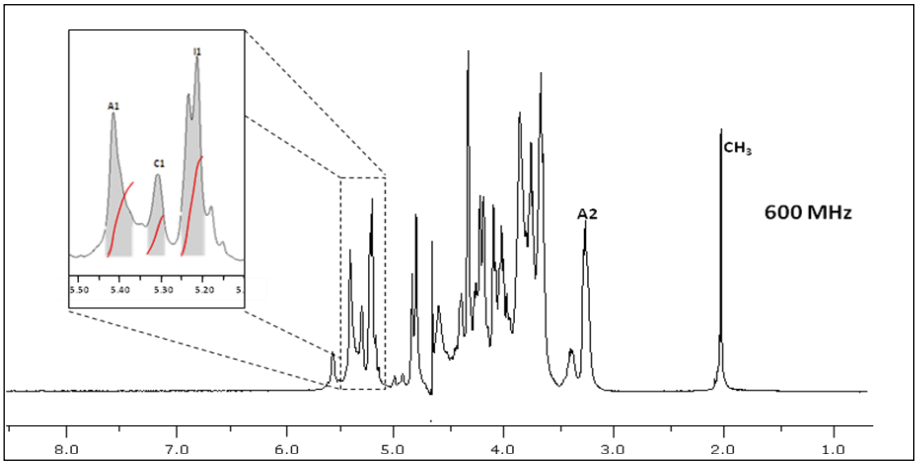
Adequação do sistema: os deslocamentos químicos correspondentes às regiões *N*-acetil da heparina e do condroitina sulfato supersulfatado na *Solução para a adequação do sistema* devem ser observados entre 2,02 e 2,08 ppm e 2,13 e 2,19 ppm, respectivamente. Os deslocamentos químicos dos sinais correspondentes ao H1 e H2 das unidades de α-glucosamina 6- e *N*-disulfatadas (A1 e A2), ao H1 do ácido α-idurônico 2-sulfatado (I1), ao H1 das unidades de α-glucosamina *N*-sulfatada (C1) e ao grupamento metil da α-glucosamina *N*-acetilada (CH_3) da solução padrão estão presentes em 5,40; 3,28; 5,22; 5,31 e 2,05 ppm, respectivamente. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar mais do que ± 0,03 ppm.

Critério de aceitação das amostras: os deslocamentos químicos dos sinais A1, C1, I1, A2 e CH_3 devem ser observados a 5,40; 5,31; 5,22; 3,28 e 2,05 ppm, respectivamente. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar mais do que ± 0,03 ppm. As integrais dos sinais A1, C1, I1 devem ser obtidos conforme a orientação dos painéis da **Figura 1**. Os espectros de heparina sódica bovina apresentam dois sinais de I1, mas devem ser integrados em conjunto. Espectrômetros de maior resolução mostram a separação de A1 em dois sinais (como exemplificado no painel B da **Figura 1**), mas também devem ser integrados em conjunto. A integral de A1 é tomada como referência. Proceder ao cálculo de acordo com a fórmula:

$$\frac{C1 \times 100}{A1} = 42 - 58$$

Obrigatoriamente, o valor obtido deve estar entre 42 e 58. Nenhum sinal não identificado no espectro, na região de 0,10 – 2,00; 2,10 – 3,20 e 5,70 – 8,00 ppm, deve ultrapassar 4% da altura do sinal A1 (5,40 ppm). Não deve ser observado o deslocamento químico entre 2,13 e 2,19 ppm, correspondentes às regiões *N*-acetil do condroitina sulfato supersulfatado.

A



B

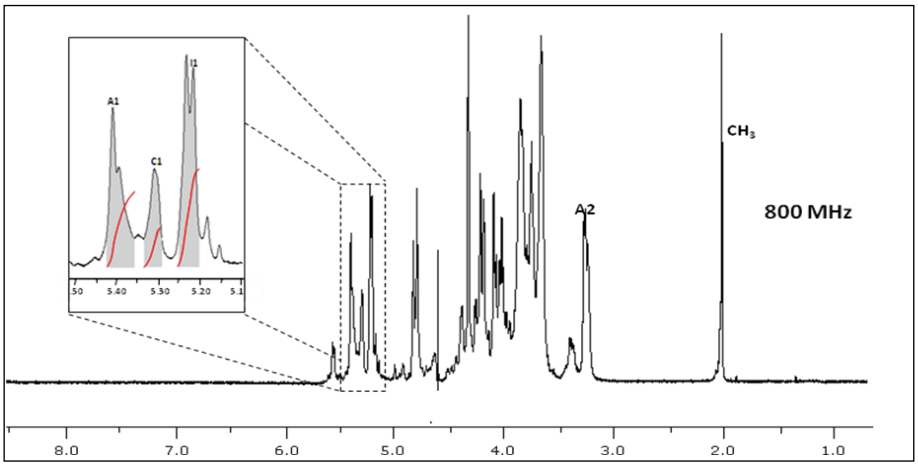


Figura 1 – Heparina sódica bovina analisada em espectrômetro.

Painel A – 600 MHz; Painel B – 800 MHz. Os sinais designados como A1 e A2 correspondem ao H1 e H2 das unidades de α-glucosamina 6- e N-disulfatadas em 5,40 e 3,28 ppm, respectivamente; o sinal I1 corresponde ao H1 do ácido α-idurônico 2-sulfatado em 5,21 ppm; C1 corresponde ao H1 das unidades de α-glucosamina *N*-sulfatada em 5,31 ppm; e metil da glucosamina *N*-acetilada em 2,05 ppm. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar além de ± 0,03 ppm. Pelos "inserts"

percebe-se a expansão das regiões entre 5,10 e 5,50 ppm dos mesmos espectros, para orientar a integração dos sinais A1, C1 e I1.

C. Utilizar a técnica de cromatografia líquida de troca iônica para detecção e separação de possíveis contaminantes da heparina sódica bovina como: dermatam sulfato, condroitina sulfato e condroitina sulfato supersulfatado. Utilizar cromatógrafo provido com detector ultravioleta. A leitura pode ser realizada a 202 nm ou 215 nm, desde que atenda à adequação do sistema. Utilizar uma pré-coluna de 50,0 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro interno empacotada com resina Ionpac AG11 HC (9 μm); coluna de 250 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro interno, empacotada com Ionpac AS11 HC (9 μm), mantida a 40 °C; fluxo da fase móvel de 0,5 mL/minuto.

Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Eluente A: preparar solução de TRIS a 20 m*M*. Ajustar pH para 7,4 com ácido clorídrico diluído.

Eluente B: preparar solução de TRIS a 20 m*M* e NaCl a 2,5 *M*. Ajustar pH para 7,4 com ácido clorídrico diluído.

Gradiente da fase móvel: adotar sistema de gradiente de 0 a 2,5 *M* de NaCl, como descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 4	83,4	16,6	isocrática
4 – 22	83,4 → 0	16,6 → 100	gradiente linear
22 – 40	0	100	isocrática

Solução de referência de heparina sódica bovina: solubilizar heparina de mucosa intestinal bovina na concentração de 4,0 mg/mL na fase móvel A no momento de realizar o ensaio **(Figura 2C)**.

Solução de adequação do sistema: solubilizar sulfato de dermatam SQR e condroitina sulfato supersulfatado SQR na concentração de 0,6 mg/mL e 0,4 mg/mL, respectivamente na *Solução de referência de heparina sódica bovina* na concentração de escolha, no momento de realizar o ensaio **(Figuras 2B e 2C)**.

Solução amostra: solubilizar a amostra-teste na concentração de 4,0 mg/mL na fase móvel A.

Procedimento: injetar 50 µL de cada uma das três soluções citadas acima para determinação do perfil de eluição. O pico obtido no cromatograma com a *Solução amostra* deve ser semelhante em forma e tempo de retenção ao pico obtido com a *Solução de referência de heparina bovina* **(Figura 2A)**. O tempo de retenção da heparina sódica bovina é cerca de 18 minutos.

Adequação do sistema: a retenção relativa com referência à heparina sódica bovina (tempo de retenção = cerca de 18 minutos) é de 0,9 para o dermatam sulfato e 1,2 para o condroitina sulfato supersulfatado. Na *Solução de adequação do sistema* a relação entre a altura do pico do dermatam sulfato e o vale (linha de base entre os picos de dermatam sulfato e heparina bovina) é de, no mínimo, 1,3. A heparina bovina, em contraste com a suína (ver monografia específica), elui na cromatografia líquida de troca iônica como um pico mais largo e menos resolvido em relação ao dermatam sulfato. Isso demanda atenção especial na análise para atender aos critérios de adequação do sistema.

Critérios de aceitação: não detectar a presença de condroitina sulfato supersulfatado e a quantidade de dermatam sulfato deve ser inferior a 4% dos glicosaminoglicanos totais. Não podem existir outros picos além do pico referente à heparina e ao dermatam sulfato.

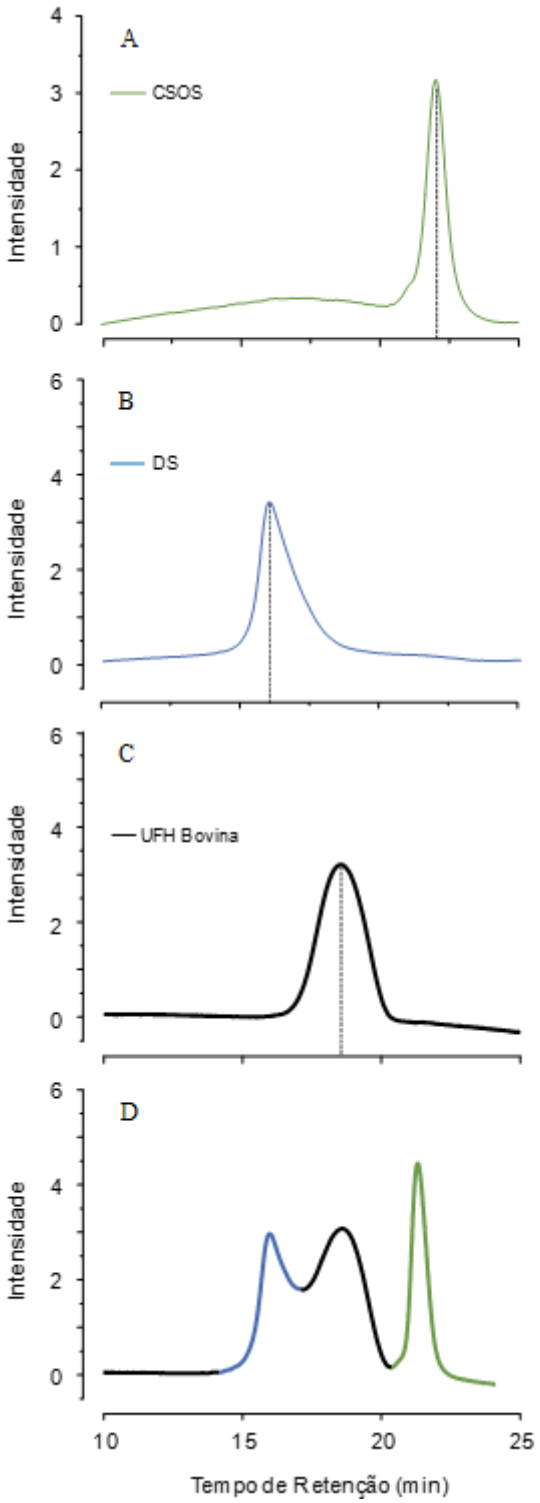


Figura 2 – Perfil de eluição da heparina sódica bovina na cromatografia líquida em coluna de troca iônica

Perfil de eluição do condroitina sulfato supersulfatado, dermatam sulfato e heparina bovina em cromatografia de troca iônica. Foram aplicadas 20 µg de CSOS (A), 30 µg de DS (B), 200 µg de heparina bovina (C) e uma mistura contendo as mesmas quantidades de cada polissacarídeo (D). Os tempos de retenção são iguais para as amostras analisadas separadamente ou misturadas.

CARACTERÍSTICAS

Características físicas. Pó branco ou quase branco, higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Proteínas.

A. Adicionar cinco gotas de ácido tricloroacético a 20% (p/v) em 1 mL de solução aquosa da amostra a 1% (p/v). Não deve formar precipitado ou turbidez.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no ultravioleta, visível, e infravermelho* **(5.2.14).**

Solução A: misturar dois volumes de hidróxido de sódio 1% com dois volumes de carbonato de sódio 5% e diluir para cinco volumes com água.

Solução B: misturar dois volumes de sulfato de cobre ($CuSO_4.5H_2O$) 1,25% com dois volumes de tartarato de sódio ($C_4H_4Na_2O_6.2H_2O$) 2,98% e diluir para cinco volumes com água.

Solução C: misturar um volume da *Solução B* com 50 volumes da *Solução A.*

Solução D: diluir adequadamente o reagente fosfomolibdotúngstico em água de modo que as soluções amostra e padrão tenham o valor de pH entre 10,00 e 10,50 após adição das S*oluções C e D*.

Solução amostra: preparar solução da amostra de concentração de 5 mg/mL em água.

Solução referência: preparar solução de albumina bovina R (cerca de 96% de proteína) de concentração de 100 mg/mL em água. Fazer diluições com água de maneira a obter no mínimo cinco soluções referência tendo concentrações de proteína distribuídas uniformemente na faixa de 5 µg/mL a 100 µg/mL.

Procedimento: adicionar 5 mL da *Solução C* para cada 1 mL das *Soluções referências, Solução amostra* e branco (água), respectivamente. Deixar em repouso por 10 minutos. Adicionar 0,5 mL da *Solução D*, misturar e deixar em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos. Medir as absorbâncias das soluções a 750 nm, utilizando a solução branco para ajuste do zero.

Curva de calibração: a relação da absorbância e concentração de proteína não é linear, contudo, se a faixa de concentração utilizada para traçar a curva padrão for suficientemente pequena, em último caso se aproximará da linearidade. Construir uma curva padrão, plotando as absorbâncias das soluções referência contra suas concentrações, utilizando regressão linear, traçar uma reta linear de melhor ajuste aos pontos plotados. Determinar a concentração de proteína na solução amostra, através de sua absorbância e da curva padrão. No máximo 0,5% em relação à substância dessecada.

Impurezas nucleotídicas. Dissolver 40 mg em 10 mL de água. A absorbância é medida a 260 nm e o resultado deve ser, no máximo, 0,15.

Nitrogênio (5.3.3.2). Utilizar o *Método I, macrodeterminação*. No mínimo**,** 1,5% e, no máximo, 2,5% de nitrogênio, calculado em relação à substância dessecada.

Sódio. Entre 10,5% a 13,5% de sódio determinado conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* (**5.2.13.1**).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo**,** 0,003% (30 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a vácuo a 60 ºC por três horas. No máximo**,** 8%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo**,** 0,03 UE/UI de heparina sódica bovina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. *Método I*

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano para obter concentração de 20 m*M*, cloreto de sódio para 150 m*M* em água destilada contendo polietilenoglicol 8000 a 0,1%. Se necessário, ajustar o pH para 7,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina humana conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar. Diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução 0,02 UI/mL (equivalente a 40 n*M*) de antitrombina humana.

Solução de fator IIa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 2,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*) de fator IIa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2,0 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Solução de parada: preparar uma solução a 50% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: para os ensaios de doseamento utilizar heparina (SQR), não importando seu tecido de origem. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina SQR conforme recomendado pelo fabricante e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de forma a obter pelo menos dez soluções com concentração variando entre 0,1 e 0,0001 UI/mL de atividade anti-IIa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da *Solução padrão*.

Procedimento: dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Executar o teste em microplacas e realizar a leitura espectrofotométrica a 405 nm em um leitor de microplacas a 37 °C. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina SQR e *Solução amostra* em duplicata. Em cada poço da microplaca, adicionar 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* ou da solução amostra, 25 µL da *Solução de antitrombina* e 10 µL da *Solução de fator IIa humano*. Após dois minutos de incubação a 37 °C, adicionar 25 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco durante cinco minutos. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*.

Medição "endpoint": proceder como descrito na *Medição cinética*. Após a adição da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*, esperar quatro minutos e parar a reação com a adição de 50 µL de *Solução de parada*.

Os modelos estatísticos para análise da relação entre inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, calcular a regressão da absorbância ou mudança de absorbância/minuto contra as concentrações em logaritmo das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica bovina em UI/mg, de base seca.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, calcular a regressão da absorbância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina sódica bovina em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: a potência das heparinas sódicas bovinas deve apresentar**,** no mínimo**,** 100 UI da atividade antifator IIa por mg.

Atividade antifator Xa

Proceder conforme descrito em *Atividade antifator IIa*, com exceção da *Solução de fator IIa humano* que deve ser trocada por *Solução de fator Xa humano* e da *Solução de substrato cromogênico* dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) que deve ser trocada pela *Solução de substrato cromogênico* dicloridrato de N-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida (N-α-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA.2HCl. O tampão a ser utilizado nesse ensaio é *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, porém com adição de cloreto de cálcio 10 m*M*. Preparar a *Solução de fator Xa humano* e a *Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano* como descrito a seguir.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* com adição de cloreto de cálcio, de modo a obter solução a 1,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*).

Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de N-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida (N-α-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2,0 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Proceder com as análises estatísticas e cálculos indicados em *Atividade antifator IIa*.

Critérios de aceitação: a potência da heparina bovina sódica deve apresentar**,** no mínimo**,** 100 UI da atividade antifator IIa por mg. A razão da atividade antifator Xa/antifator IIa deve ser, no mínimo, 0,9, e**,** no máximo, 1,1.

B. *Método II*

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver 6,10 g de tris (hidroximetil) aminometano, 10,20 g de cloreto de sódio, 2,80 g edetato de sódio e, se necessário, 0 a 10,0 g de polietilenoglicol 6000 e/ou 2,0 g de albumina sérica bovina ou humana em 800 mL de água destilada. Ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio e completar com água para 1000 mL.

Solução de antitrombina: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 5,0 UI/mL. Diluir com o mesmo tampão para se obter uma concentração de 0,125 UI/mL.

Solução de trombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de trombina humana (fator IIa) em água destilada para uma concentração de 20 UI/mL e diluir em *Tampão tris(hidroximetil)aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de trombina a 5,0 UI/mL.

Solução de substrato cromogênico: diluir um substrato cromogênico de trombina para teste amidolítico em água para que se obtenha 1,25 m*M*.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos quatro soluções com concentração variando entre 0,005 e 0,03 UI/mL.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina e solução amostra em duplicata. Os tubos devem ser identificados de acordo com o número de replicatas a serem testadas. Distribuir os brancos nas colunas de forma que representem o comportamento dos reagentes durante o ensaio. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 50-100µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*.

Todas as soluções de reagentes, padrão e amostra em teste devem ser pré-aquecidas a 37 ºC por 15 minutos antes de serem adicionadas nos tubos. Transferir para cada um dos tubos plásticos, separadamente, um volume fixo (por exemplo, 50-100 µL) de cada uma das diferentes diluições de *Solução padrão,* ou *Solução amostra* ou *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,*4. Adicionar em cada um dos tubos um volume dobrado da *Solução de antitrombina* (100-200 µl). Homogeneizar todos os tubos, suavemente, sem produzir bolhas, e incubar a 37 ºC por, no mínimo, um minuto. Adicionar em cada tubo 25-50 µL da *Solução de trombina humana* e incubar a 37 ºC por, no mínimo, um minuto. Adicionar 50-100 µL da *Solução de substrato cromogênico,* homogeneizar.

Dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição "endpoint": parar a reação após um minuto com 50-100 µL de solução de parada. Registrar a absorbância de cada solução a 405 nm. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser menor que 10%.

Medição cinética: registrar a mudança na absorbância para cada solução durante um minuto, medida em 405 nm. Expressar como mudança na absorção por minuto (ΔOD/minuto) das soluções e dos brancos, os quais devem apresentar valores superiores devido à ausência de heparina. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser menor que 10%.

Cálculos: os modelos estatísticos para análise da relação ente inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do modelo que descreva melhor a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, determinar a regressão da absorbância ou mudança de absorbância/minuto contra o logaritmo das concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica bovina em UI/mg de base seca.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, determinar a regressão do logaritmo da absorbância ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina bovina sódica em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: a potência da heparina sódica bovina deve apresentar**,** no mínimo**,** 100 UI da atividade antifator IIa por mg.

Atividade antifator Xa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano, ácido edético ou edetato de sódio, e cloreto de sódio em água destilada contendo polietilenoglicol 6000 a 0,1% para se obter concentrações de 0,050 *M*; 0075 *M* e 0,175 *M*, respectivamente. Se necessário, ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 1,0 UI/mL.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução que resulte em 0,65 a 1,25 de absorbância a 405 nm quando testada como descrito abaixo, substituindo os 30 µL de solução de amostra por 30 µL de solução tampão pH 8,4.

Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano: diluir em água um substrato cromogênico para teste amidolítico, específico para o fator Xa, para que se obtenha uma concentração de 1 m*M*.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos cinco soluções com concentração variando entre 0,03 e 0,375 UI/mL de atividade antifator Xa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Transferir 120 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* para tubos plásticos mantidos a 37 °C. Em cada tubo, separadamente, adicionar 30 µL das diferentes diluições da *Solução padrão* ou da *Solução amostra*. Adicionar em cada tubo 150 µL da *Solução de antitrombina* pré-aquecida a 37 ºC por 15 minutos, homogeneizar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL da *Solução de fator Xa humano* pré-aquecida a 37 ºC por 15 minutos, homogeneizar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano* pré-aquecida a 37 ºC por 15 minutos, homogeneizar e, após incubar por dois minutos, adicionar em cada tubo 150 µL da *Solução de parada* e misturar. Para zerar o espectrofotômetro, preparar um branco, adicionando os reagentes em ordem inversa, a partir da *Solução de parada* até a adição final de 150 µL do *Tampão tris (hidroximetil) nometano pH 8,4*, omitindo a *Solução padrão* e *Solução amostra*. Registrar a absorbância medida em 405 nm contra o branco.

Cálculos: determinar os valores do logaritmo da absorbância contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões. Calcular a atividade da amostra usando os métodos estatísticos para o ensaio de relação entre inclinação das retas. Calcular a atividade antifator Xa segundo a equação:

$$P = (S_A/S_P)$$

em que

P = potência da heparina sódica bovina em UI/mg de base seca;
S_A = inclinação da reta para a *Solução amostra;*
S_P = inclinação da reta para a *Solução padrão;*
Expressar a atividade antifator Xa da heparina sódica bovina em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: calcular a relação da atividade do antifator Xa contra a potência do antifator IIa (antifator Xa / antifator IIa), que deve estar compreendida entre 0,9 e 1,1.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

HEPARINA SÓDICA SUÍNA

A heparina sódica suína é extraída de mucosa intestinal suína e contém uma mistura de cadeias polissacarídicas de peso molecular variado. É composta, preponderantemente, por unidades alternadas de α-D-glucosamina *N*- e 6- disulfatadas e ácido α-idurônico 2-sulfatado. Possui atividade anticoagulante devido à inibição de diversos fatores do sistema de coagulação, prolongando o tempo de coagulação do sangue. Isso ocorre principalmente por meio da potencialização da inativação do fator Xa e da trombina pela antitrombina. Contém, no mínimo, 180 unidades de atividade antifator IIa por mg de heparina, em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela atividade antifator IIa deve estar entre 0,9 e 1,1. Como critério de aceitação para cada ensaio realizado para a atividade antifator IIa e Xa, a potência calculada com base no peso seco deve estar compreendida entre 90% e 110% da potência declarada. Os animais dos quais a heparina é extraída devem preencher os requisitos sanitários para a espécie em questão e o processo de produção deve garantir a remoção ou inativação de agentes infecciosos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Cumpre as exigências descritas em *Doseamento*, segundo os *métodos I* ou *II* de *Atividade antifator Xa* e de *Atividade antifator IIa.*

B. Utilizar a técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear unidimensional de próton. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Solução padrão: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL de heparina suína SQR em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiônico de sódio.

Solução para adequação do sistema: preparar solução a 1% (p/p) de condroitina sulfato supersulfatado SQR em *Solução padrão*.

Solução amostra: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL da amostra em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiônico de sódio.

Procedimento: na análise das amostras deve-se utilizar um espectrômetro de ressonância magnética nuclear de, no mínimo, 500 MHz, tempo de aquisição mínimo de 2 segundos, tempo de repetição (tempo de espera mais tempo de aquisição) mínimo de 4 segundos. O ensaio deve ser realizado sob a temperatura constante de 35 °C com um programa de supressão de água. A janela espectral deve ser, no mínimo, de 10 a -2 ppm. Para todas as amostras, o grupo metila do composto trimetilsililpropiônico deve ser referenciado em 0,00 ppm. Os espectros obtidos devem ser similares ao da *Solução padrão*.

Adequação do sistema: os deslocamentos químicos correspondentes às regiões *N*-acetil da heparina e do condroitina sulfato supersulfatado na *Solução para a adequação do sistema* devem ser observados entre 2,02 e 2,08 ppm e entre 2,13 e 2,19 ppm, respectivamente. Os deslocamentos químicos dos sinais correspondentes ao H1 e H2 das unidades de α-glucosamina 6- e *N*-disulfatadas (A1 e A2), ao H1 do ácido α-idurônico 2-sulfatado (I1), ao H1 das unidades de α-glucosamina *N*-sulfatada (C1) e ao grupamento metil da α-glucosamina *N*-acetilada (CH_3) da solução padrão estão presentes em 5,40; 3,28; 5,22; 5,31 e 2,05 ppm, respectivamente. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar mais do que ± 0,03 ppm.

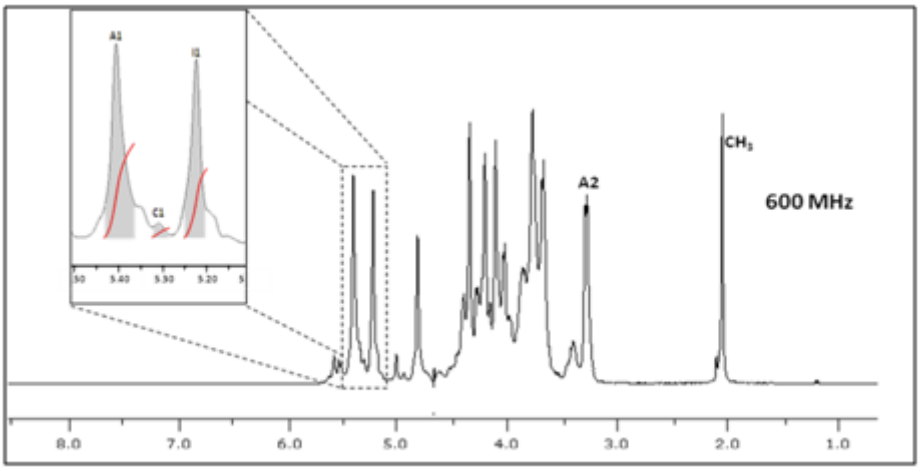
Critério de aceitação das amostras: os deslocamentos químicos dos sinais A1, C1, I1, A2 e CH_3 devem ser observados a 5,40; 5,31; 5,22; 3,28 e 2,05 ppm, respectivamente. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar além de ± 0,03 ppm. As integrais dos sinais A1, C1, I1

devem ser obtidas conforme a orientação dos painéis da **Figura 1**. Espectrômetros de maior resolução sugerem separações desses sinais (como mostrado para I1 no insert do painel B), contudo são integrados em conjunto com o sinal principal. A integral de A1 é tomada como referência. Proceder ao cálculo de acordo com a fórmula:

$$\frac{C1 \times 100}{A1} \leq 20$$

Obrigatoriamente, o valor obtido deve ser menor que 20%. Nenhum sinal não identificado no espectro, na região de 0,10 - 2,00; 2,10 - 3,20 e 5,70 - 8,00 ppm, deve ultrapassar 4% da altura do sinal A1 (5,40 ppm). Não deve ser observado o deslocamento químico entre 2,13 e 2,19 ppm, correspondentes às regiões *N*-acetil do condroitina sulfato supersulfatado.

A



B

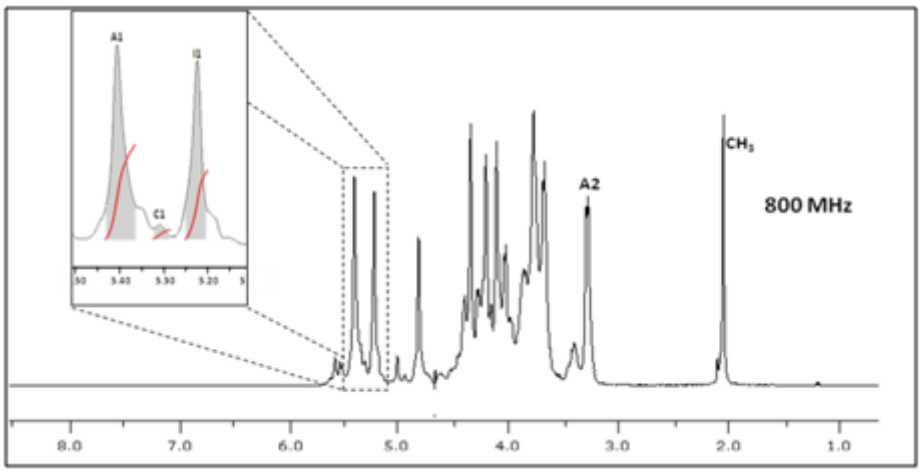


Figura 1 – Heparina sódica suína analisada em espectrômetro.

Painel A – 600 MHz; Painel B – 800 MHz. Os sinais designados como A1 e A2 correspondem ao H1 e H2 das unidades de α-glucosamina 6- e N-disulfatadas em 5,40 e 3,28 ppm, respectivamente; o sinal I1 corresponde ao H1 do ácido α-idurônico 2-sulfatado em 5,21 ppm; C1 corresponde ao H1 das unidades de α-glucosamina *N*-sulfatada em 5,31 ppm; e metil da glucosamina *N*-acetilada em 2,05 ppm. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar de ± 0,03 ppm. Pelos "inserts" percebe-se a expansão das regiões entre 5,10 e 5,50 ppm dos mesmos espectros, para orientar a integração dos sinais A1, C1 e I1.

C. Utilizar a técnica de cromatografia líquida de troca iônica para detecção e separação de possíveis contaminantes da heparina sódica suína como: dermatam sulfato; condroitina sulfato e condroitina sulfato supersulfatado. Utilizar cromatógrafo provido com detector ultravioleta. A leitura pode ser realizada a 202 nm ou 215 nm, desde que atenda à adequação do sistema. Utilizar uma pré-coluna de 50,0 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro interno empacotada com resina Ionpac AG11 HC (9 μm); coluna de 250 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro interno, empacotada com Ionpac AS11 HC (9 μm), mantida a 40 ºC fluxo da fase móvel de 0,5 mL/minuto. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Eluente A: preparar solução de TRIS a 20 m*M*. Ajustar o pH para 7,4 com ácido clorídrico diluído.

Eluente B: preparar solução de TRIS a 20 m*M* e NaCl a 2,5 *M*. Ajustar o pH para 7,4 com ácido clorídrico diluído.

Gradiente da fase móvel: adotar sistema de gradiente de 0 a 2,5 *M* de NaCl, como descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 – 4	83,4	16,6	isocrática
4 – 22	83,4→0	16,6→100	gradiente linear
22 – 40	0	100	isocrática

Solução de referência de heparina sódica suína: solubilizar heparina sódica suína SQR na concentração de 4,0 mg/mL na fase móvel A no momento de realizar o ensaio **(Figura 2C)**.

Solução de adequação do sistema: solubilizar dermatam sulfato SQR e condroitina sulfato supersulfatado SQR na concentração de 1,0 mg/mL e 0,4 mg/mL, respectivamente, na *Solução de referência de heparina sódica suína* na concentração de escolha, no momento de realizar o ensaio (**Figuras 2B** e **2A**).

Solução amostra: solubilizar a amostra-teste na concentração de 4,0 mg/mL na fase móvel A.

Procedimento: injetar 50 μL de cada uma das três soluções citadas acima para determinação do perfil de eluição. O pico obtido no cromatograma com a *Solução amostra* deve ser semelhante em forma e tempo de retenção ao pico obtido com a *Solução de referência de heparina suína* (**Figura 2C**). O tempo de retenção da heparina sódica suína é cerca de 19 minutos.

Adequação do sistema: a retenção relativa com referência à heparina sódica suína (tempo de retenção = cerca de 19 minutos) é de 0,8 para o dermatam sulfato e 1,1 para o condroitina sulfato supersulfatado. Na *Solução de adequação do sistema* a relação entre a altura do pico do dermatam sulfato SQR e o vale (linha de base entre os picos de dermatam sulfato e heparina) é de, no mínimo, 2,0. Para atingir esses requisitos devem ser escolhidas as concentrações adequadas das SQR.

Critérios de aceitação: não detectar a presença de condroitina sulfato supersulfatado. A quantidade de dermatam sulfato deve ser inferior a 4% dos glicosaminoglicanos totais. Não podem existir outros picos além do pico referente à heparina sódica suína e ao dermatam sulfato.

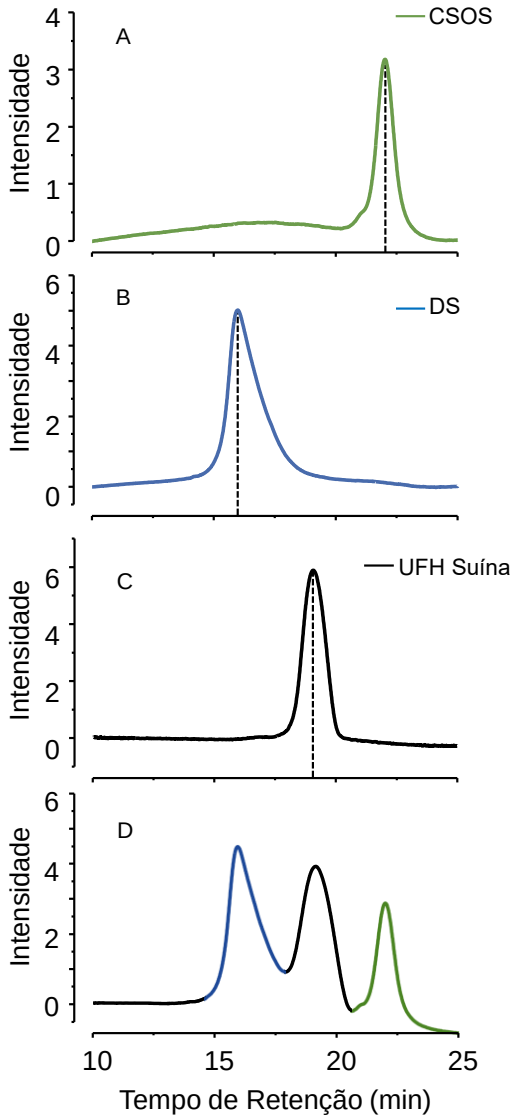


Figura 2 – Perfil de eluição da heparina sódica suína na cromatografia líquida em coluna de troca iônica.

Perfil de eluição do condroitina sulfato supersulfatado, dermatam sulfato e heparina sódica suína em cromatografia de troca iônica. Foram aplicadas 20 µg de CSOS (A), 50 µg de DS (B), 200 µg de heparina sódica suína (C) e uma mistura contendo as mesmas quantidades de cada polissacarídeo (D). Os tempos de retenção são iguais para as amostras analisadas separadamente ou misturadas.

CARACTERÍSTICAS

Características físicas. Pó branco ou quase branco, higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Proteínas.

A. Adicionar cinco gotas de ácido tricloroacético a 20% (p/v) em 1 mL de solução aquosa da amostra a 1% (p/v). Não deve formar precipitado ou turbidez.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no ultravioleta, visível, e infravermelho* **(5.2.14)**.

Solução A: misturar dois volumes de hidróxido de sódio 1% com dois volumes de carbonato de sódio 5% e diluir para cinco volumes com água.

Solução B: misturar dois volumes de sulfato de cobre ($CuSO_4.5H_2O$) 1,25% com dois volumes de tartarato de sódio ($C_4H_4Na_2O_6.2H_2O$) 2,98% e diluir para cinco volumes com água.

Solução C: misturar um volume da *Solução B* com 50 volumes da *Solução A.*

Solução D: diluir adequadamente o reagente fosfomolibdotúngstico em água de modo que as soluções amostra e padrão tenham o valor de pH entre 10,00 e 10,50 após adição das *Soluções C e D.*

Solução amostra: preparar solução da amostra de concentração de 5 mg/mL em água.

Solução referência: preparar solução de albumina bovina R (cerca de 96% de proteína) de concentração de 100 mg/mL em água. Fazer diluições com água de maneira a obter, no mínimo, cinco soluções referência tendo concentrações de proteína distribuídas uniformemente na faixa de 5 µg/mL a 100 µg/mL.

Procedimento: adicionar 5 mL da *Solução C* para cada 1 mL das *Soluções referências*, *Solução amostra* e branco (água), respectivamente. Deixar em repouso por 10 minutos. Adicionar 0,5 mL da *Solução D*, misturar e deixar em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos. Medir as absorbâncias das soluções a 750 nm, utilizando a solução branco para ajuste do zero.

Curva de calibração: a relação da absorbância e concentração de proteína não é linear, contudo, se a faixa de concentração utilizada para traçar a curva padrão for suficientemente pequena, em último caso se aproximará da linearidade. Construir uma curva padrão, plotando as absorbâncias das soluções referência contra suas concentrações, utilizando regressão linear, traçar uma reta linear de melhor ajuste aos pontos plotados. Determinar a concentração de proteína na solução amostra, por meio de sua absorbância e da curva padrão. No máximo 0,5% em relação à substância dessecada.

Impurezas nucleotídicas. Dissolver 40 mg em 10 mL de água. A absorbância é medida a 260 nm e o resultado deve ser, no máximo, 0,15.

Nitrogênio (5.3.3.2). Utilizar o *Método I, macrodeterminação*. No mínimo**,** 1,5% e, no máximo, 2,5% de nitrogênio, calculado em relação à substância dessecada.

Sódio. Entre 10,5% a 13,5% de sódio determinado conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo**,** 0,003% (30 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em estufa a vácuo a 60 ºC por três horas. No máximo**,** 8%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo**,** 0,03 UE/UI de heparina sódica suína.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. *Método I*

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano para obter concentração de 20 m*M*, cloreto de sódio para 150 m*M* em água destilada contendo polietilenoglicol 8000 a 0,1%. Se necessário, ajustar o pH para 7,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina humana conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar. Diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução 0,02 UI/mL (equivalente a 40 n*M*) de antitrombina humana.

Solução de fator IIa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 2,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*) de fator IIa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Solução de parada: preparar uma solução a 50% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: utilizar solução padrão de heparina sódica suína SQR. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica suína SQR conforme recomendado pelo fabricante e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de forma a obter pelo menos dez soluções com concentração variando entre 0,1 e 0,0001 UI/mL. As concentrações utilizadas devem apresentar, no mínimo, cinco pontos dentro de uma faixa linear. A faixa de concentração utilizada pode ser adaptada para contemplar essa linearidade.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução heparina sódica suína SQR.

Procedimento: dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Executar o teste em microplacas e realizar a leitura espectrofotométrica a 405 nm em um leitor de

microplacas a 37 °C. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina SQR e solução amostra em duplicata. Em cada poço da microplaca, adicionar 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* ou da *Solução amostra*, 25 µL da *Solução de antitrombina humana* e 10 µL da *Solução de fator IIa humano***.** Após dois minutos de incubação a 37 ºC, adicionar 25 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco durante cinco minutos. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*.

Medição "endpoint": proceder como descrito na *Medição cinética*. Após a adição da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*, esperar quatro minutos e parar a reação com a adição de 50 µL de *Solução de parada*.

Os modelos estatísticos para análise da relação entre inclinação das retas ou sobre paralelismo devem ser usados escolhendo o melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, calcular a regressão da absorbância ou mudança de absorbância/minuto contra as concentrações em escala logarítmica das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica suína em UI/mg, de base seca.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, calcular a regressão da absorbância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina sódica suína em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: a potência da heparina sódica suína deve apresentar, no mínimo, 180 UI da atividade antifator IIa por mg.

Atividade antifator Xa

Proceder conforme descrito em *Atividade antifator IIa*, com exceção da *Solução de fator IIa humano* que deve ser trocada por *Solução de fator Xa humano* e da *Solução de substrato cromogênico* dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) que deve ser trocada pela *Solução de substrato cromogênico* dicloridrato de N-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida (N-α-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA.2HCl). O tampão a ser utilizado nesse ensaio é *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, porém com adição de cloreto de cálcio 10 m*M*. Preparar a *Solução de fator Xa humano* e a *Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano* como descrito a seguir.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4 com adição de cloreto de cálcio*, de modo a obter solução a 1,0 UI/mL (equivalente a 20 n*M*).

Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de N-α-benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida (N-α-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Proceder com as análises estatísticas e cálculos indicados em *Atividade antifator IIa*.

Critérios de aceitação: a potência da heparina sódica suína deve apresentar, no mínimo, 180 UI da atividade antifator IIa por mg. A razão da atividade antifator Xa/antifator IIa deve ser, no mínimo, 0,9 e, no máximo, 1,1.

B. *Método II*

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver 6,10 g de tris (hidroximetil) aminometano, 10,20 g de cloreto de sódio, 2,80 g edetato de sódio e, se necessário, 0 a 10,0 g de polietilenoglicol 6000 e/ou 2,0 g de albumina sérica bovina ou humana em 800 mL de água destilada. Ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio e completar com água para 1 000 mL.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 5,0 UI/mL. Diluir com o mesmo tampão para se obter uma concentração de 0,125 UI/mL.

Solução de trombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de trombina humana (fator IIa) em água destilada para uma concentração de 20 UI/mL e diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de trombina a 5,0 UI/mL.

Solução de substrato cromogênico: diluir um substrato cromogênico de trombina para teste amidolítico em água para que se obtenha 1,25 m*M*.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica suína padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos quatro soluções com concentração variando entre 0,005 e 0,03 UI/mL.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina e solução amostra em duplicata. Os tubos devem ser identificados de acordo com o número de replicatas a serem testadas. Distribuir os brancos nas colunas de forma que representem o comportamento dos reagentes durante o ensaio. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 50-100 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*.

Todas as soluções de reagentes, padrão e amostra em teste devem ser pré-aquecidas a 37 ºC por 15 minutos antes de serem adicionadas nos tubos. Transferir para cada um dos tubos plásticos, separadamente, um volume fixo (por exemplo, 50-100 µL) de cada uma das diferentes diluições de *Solução padrão,* ou *Solução amostra* ou *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*. Adicionar em cada um dos tubos um volume dobrado da *Solução de antitrombina humana* (100-200 µl). Homogeneizar todos os tubos, suavemente, sem produzir bolhas, e incubar a 37 ºC por, no mínimo, um minuto. Adicionar em cada tubo 25-50 µL da *Solução de trombina humana* e incubar a 37 ºC por, no mínimo, um minuto. Adicionar 50-100 µL da *Solução de substrato cromogênico*, homogeneizar.

Dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: registrar a mudança na absorbância para cada solução durante um minuto, medida em 405 nm. Expressar como mudança na absorção por minuto (ΔOD/min) das soluções e dos brancos, os quais devem apresentar valores superiores devido à ausência de heparina. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser menor que 10%.

Medição "endpoint": parar a reação após um minuto com 50-100 µL de solução de parada. Registrar a absorbância de cada solução a 405 nm. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser menor que 10%.

Cálculos: os modelos estatísticos para análise da relação ente inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do modelo que descreva melhor a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, determinar a regressão da absorbância ou mudança de absorbância/minuto contra o logaritmo das concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica suína em UI/mg, de base seca.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, determinar a regressão do logaritmo da absorbância ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina sódica suína em UI/mg, de base seca

Critérios de aceitação: a potência da heparina sódicas suína deve apresentar**,** no mínimo**,** 180 UI da atividade antifator IIa por mg.

Atividade antifator Xa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano, ácido edético ou edetato de sódio, e cloreto de sódio em água destilada contendo polietilenoglicol 6000 a 0,1% para se obter concentrações de 0,050 *M*; 0075 *M* e 0,175 *M*, respectivamente. Se necessário, ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 1,0 UI/mL.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução que resulte em 0,65 a 1,25 de absorbância a 405 nm quando testada como descrito abaixo, substituindo os 30 µL de solução de amostra por 30 µL de solução tampão pH 8,4.

Solução de substrato cromogênico: diluir em água um substrato cromogênico para teste amidolítico, específico para o fator Xa, para que se obtenha uma concentração de 1 m*M*.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos cinco soluções com concentração variando entre 0,03 e 0,375 UI/mL de atividade antifator Xa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Transferir 120 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,*4 para tubos plásticos mantidos a 37 °C. Em cada tubo, separadamente, adicionar 30 µL das diferentes diluições da *Solução padrão* ou da *Solução amostra*. Adicionar em cada tubo 150 µL da *Solução de antitrombina* pré-aquecida a 37 ºC por 15 minutos, homogeneizar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL da *Solução de fator Xa* pré-aquecida a 37 ºC por 15 minutos, homogeneizar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator Xa* pré-aquecida a 37 ºC por 15 minutos, homogeneizar e, após incubar por dois minutos, adicionar em cada tubo 150 µL da *Solução de parada* e homogeneizar. Para zerar o espectrofotômetro, preparar um branco, adicionando os reagentes em ordem inversa, a partir da *Solução de parada* até a adição final de 150 µL do *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, omitindo a *Solução padrão* e *Solução amostra.* Registrar a absorbância medida em 405 nm contra o branco.

Cálculos: determinar os valores do logaritmo da absorbância contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões. Calcular a atividade da amostra usando os métodos estatísticos para o ensaio de relação entre inclinação das retas. Calcular a atividade antifator Xa segundo a equação:

$$P = (S_A/S_P)$$

em que

P = potência da heparina sódica suína em UI/mg de base seca;
S_A = inclinação da reta para a *Solução amostra;*
S_P = inclinação da reta para a *Solução padrão.*

Expressar a atividade antifator Xa da heparina sódica suína em UI/mg, de base seca.

Critérios de aceitação: calcular a relação da atividade do antifator Xa contra a potência do antifator IIa (antifator Xa / antifator IIa), que deve estar compreendida entre 0,9 e 1,1.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

HEPARINA SÓDICA SOLUÇÃO INJETÁVEL

A preparação injetável de heparina sódica é uma solução estéril de heparina sódica diluída em água para injeção. A potência anticoagulante é, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da a potência declarada no rótulo em unidades por mililitro.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,03 UE/UI de heparina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. *Método I*

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano para obter concentração de 20 m*M*, cloreto de sódio para 150 m*M* em água destilada contendo polietilenoglicol 8000 a 0,1%. Se necessário, ajustar o pH para 7,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina humana conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar. Diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução 0,02 UI/mL (equivalente a 40 nM) de antitrombina humana.

Solução de fator IIa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 2,0 UI/mL (equivalente a 20 nM) de fator IIa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2 m*M*. Antes do uso, diluir em *tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 m*M*. Proceder ao abrigo de luz direta.

Solução de parada: preparar uma solução a 50% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: utilizar solução padrão de heparina SQR. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina SQR conforme recomendado pelo fabricante e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de forma a obter pelo menos dez soluções com concentração variando entre 0,1 e 0,0001 UI/mL. As concentrações utilizadas devem apresentar, no mínimo, cinco pontos dentro de uma faixa linear. A faixa de concentração utilizada pode ser adaptada para contemplar essa linearidade.

Solução amostra: diluir quantidade da amostra em tampão *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução de heparina SQR.

Procedimento: dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Executar o teste em microplacas e realizar a leitura espectrofotométrica a 405 nm em um leitor de microplacas a 37 °C. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina SQR e solução amostra em duplicata. Em cada poço da microplaca, adicionar 40 µL de tampão *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* ou da solução amostra, 25 µL da *Solução de antitrombina humana* e 10 µL da *Solução de fator IIa humano***.** Após dois minutos de incubação a 37 ºC, adicionar 25 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco durante cinco minutos. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 40 µL de tampão *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*.

Medição "endpoint": proceder como descrito na *Medição cinética*. Após a adição do substrato cromogênico, esperar quatro minutos e parar a reação com a adição de 50 µL de *Solução de parada*.

Os modelos estatísticos para análise da relação entre inclinação das retas ou sobre paralelismo devem ser usados escolhendo o melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, calcular a regressão da absorvância ou mudança de absorvância por minuto contra as concentrações em escala logarítmica das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica em UI/mL.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, calcular a regressão da absorvância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina sódica em UI/mL.

Critérios de aceitação: a potência das preparações injetáveis de heparina sódica deve apresentar, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da atividade declarada pelo rótulo. A potência deve ser expressa em UI/mL.

B. *Método II*

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver 6,10 g de tris (hidroximetil) aminometano, 10,20 g de cloreto de sódio, 2,80 g edetato de sódio e, se necessário, 0 a 10,0 g de polietilenoglicol 6000 e/ou 2,0 g de albumina sérica bovina ou humana em 800 mL de água destilada. Ajustar o pH

para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio e completar com água para 1 000 mL.

Solução de antitrombina: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 5,0 UI/mL. Diluir com o mesmo tampão para se obter uma concentração de 0,125 UI/mL.

Solução de trombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de trombina humana (fator IIa) em água destilada para uma concentração de 20 UI/mL e diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de trombina a 5,0 UI/mL.

Solução de substrato cromogênico: diluir um substrato cromogênico de trombina para teste amidolítico em água para que se obtenha 1,25 m*M*.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos quatro soluções com concentração variando entre 0,005 e 0,03 UI/mL.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em tampão *tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina e solução amostra em duplicata. Os tubos devem ser identificados de acordo com o número de replicatas a serem testadas. Distribuir os brancos nas colunas de forma que representem o comportamento dos reagentes durante o ensaio. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 50 µL a 100 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*.

Todas as soluções de reagentes, padrão e amostra em teste devem ser pré-aquecidas a 37 ºC por 15 minutos antes de serem transferidas para os tubos. Transferir para cada um dos tubos plásticos, separadamente, um volume fixo (por exemplo, 50 µL a 100 µL) de cada uma das diferentes diluições de *Solução padrão*, ou *Solução amostra* ou tampão *tris (hidroximetil) aminometano pH 8,*4. Adicionar em cada um dos tubos um volume dobrado da *Solução de antitrombina* (100 a 200 µL). Homogeneizar todos os tubos, suavemente, sem produzir bolhas, e incubar a 37 ºC por, no mínimo, um minuto. Adicionar em cada tubo 25 µL a 50 µL da *Solução de trombina humana* e incubar a 37 ºC por, no mínimo, um minuto. Adicionar 50 µL a 100 µL da *Solução de substrato cromogênico*, homogeneizar.

Dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição "endpoint"*.

Medição cinética: registrar a mudança na absorvância para cada solução durante um minuto, medida em 405 nm. Expressar como mudança na absorção por minuto (ΔOD/min) das soluções e dos brancos, os quais devem apresentar valores superiores devido à ausência de heparina. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser menos que 10%.

Medição "endpoint": parar a reação após um minuto com 50 µL a 100 µL de *Solução de parada*. Registrar a absorvância de cada solução a 405 nm. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser menor que 10%.

Cálculos: os modelos estatísticos para análise da relação ente inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do modelo que descreva melhor a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, determinar a regressão da absorvância ou mudança de absorvância por minuto contra o logaritmo das concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica em UI/mL.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, determinar a regressão do logaritmo da absorvância ou o logaritmo das alterações na absorção por minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina sódica em UI/mL.

Critérios de aceitação: a potência das preparações injetáveis de heparina sódica deve apresentar, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da atividade declarada pelo rótulo. A potência deve ser expressa em UI/mL.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

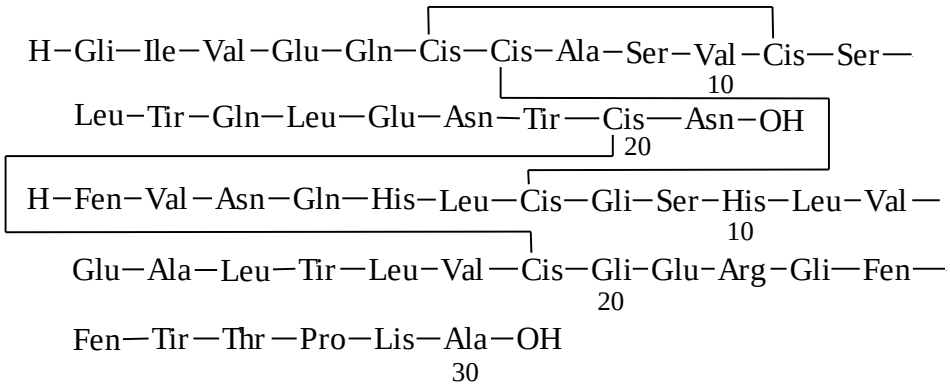
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

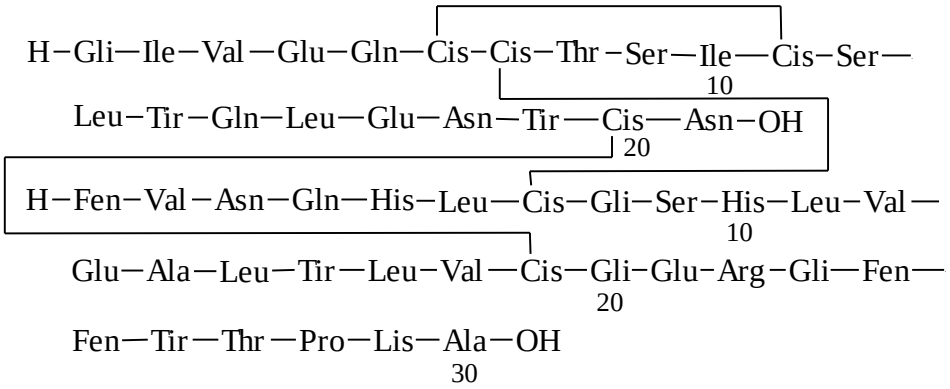
CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

INSULINA
Insulinum



INSULINA BOVINA



INSULINA PORCINA

$C_{254}H_{377}N_{65}O_{75}S_6$; 5733,50 (bovina)
$C_{256}H_{381}N_{65}O_{76}S_6$; 5777,55 (porcina)
insulina; 04908
Insulina (bovina)
[*11070-73-8*]
Insulina (porcina)
[*12584-58-6*]

Insulina é uma proteína que afeta o metabolismo da glicose. Ela é obtida do pâncreas de bovinos e suínos saudáveis, ou ambos, utilizados como alimento pelos humanos. A quantidade é, no mínimo, 26,5 unidades de insulina em cada miligrama; insulina rotulada como purificada contém, no mínimo, 27,0 unidades de insulina em cada miligrama, calculada na base seca. O teor de pró-insulina é, no máximo, 10 ppm.

Nota: *uma unidade de insulina é equivalente a 0,0342 mg da insulina pura derivada de bovinos ou 0,0345 mg da insulina pura derivada de suínos.*

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Preparação do ensaio*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Preparação de identificação*.

***Nota**: pode ser necessário aplicar a mistura da Preparação do ensaio com a Preparação de identificação.*

B. Determinação dos fragmentos peptídicos. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (1,5 µm a 10 µm), mantida a temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão sulfato: misturar volumes iguais de sulfato de amônio 2 *M* e ácido sulfúrico 0,5 *M* e filtrar.

Solução enzimática: preparar uma solução de protease *Staphylococcus aureus* V-8 em água, contendo uma atividade de 500 UI/mL.

Tampão HEPES: dissolver 2,38 g de HEPES (ácido *N*-2-hidroxietilpiperazina-*N*'-2-etanosulfônico) em cerca de 90 mL de água em um balão volumétrico de 100 mL. Ajustar o pH para 7,5 utilizando hidróxido de sódio 5 *M*. Diluir com água até completar o volume do balão e misturar.

Eluente A: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de 100 mL de acetonitrila, 700 mL de água e 200 mL de *Tampão sulfato*.

Eluente B: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de 400 mL de acetonitrila, 400 mL de água e 200 mL de *Tampão sulfato*.

Solução padrão de digestão: dissolver, conforme a espécie indicada, 6 mg de insulina SQR em 3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e transferir 500 µL da solução resultante para um frasco limpo. Adicionar 2 mL de *Tampão HEPES* e 400 µL de *Solução enzimática* e incubar a 25 °C durante seis horas. Interromper a digestão pela adição de 2,9 mL de *Tampão sulfato*.

Solução teste de digestão: para 1 mg de insulina, adicionar 500 µL de ácido clorídrico 0,01 *M* e misturar para dissolver. Proceder conforme indicado para *Solução padrão de digestão*, iniciando por "adicionar 2 mL de *Tampão HEPES*".

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0	90	10	equilíbrio
0 – 60	90 → 30	10 → 70	gradiente linear
60 – 65	30 → 0	70 → 100	gradiente linear
65 – 70	0	100	isocrática
70 – 71	0 → 90	100 → 10	gradiente linear
71 – 86	90	10	reequilíbrio

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais de *Solução padrão de digestão* e *Solução teste de digestão*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. O perfil cromatográfico da *Solução teste de digestão* corresponde àquele da *Solução padrão de digestão*. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. A resolução entre os picos do fragmento de digestão II e do fragmento de digestão III é, no mínimo, 1,9.

Nota: *fragmento I elui ao mesmo tempo na insulina derivada de suínos e insulina humana; fragmento II elui ao mesmo tempo em todas as insulinas; e fragmento III elui ao mesmo tempo na insulina derivada de bovinos e suínos.*

Nota: *o volume a ser injetado é dependente da resolução do equipamento. Deve ser injetado um volume necessário para obtenção da separação e resolução dos picos.*

CARACTERÍSTICAS

Perda por dessecação (5.2.9.1). Determinar em 0,2 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por 16 horas. No máximo 10%.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)**. Determinar o teor de zinco de cerca de 10 mg da amostra, pesada com exatidão. No máximo, 1,0%, calculado na base seca.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4).** Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (1,5 µm a 10 µm), mantida a temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Diluente: dissolver 28,4 g de sulfato de sódio anidro em 1000 mL de água. Adicionar 2,7 mL de ácido fosfórico. Ajustar, se necessário, o pH para 2,3 utilizando etanolamina e homogeneizar.

Eluente A: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada do *Diluente* e acetonitrila (82:18).

Eluente B: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada do *Diluente* e acetonitrila (50:50).

Gradiente da *Fase móvel*: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0	81	19	equilíbrio
0 – 60	81	19	isocrática
60 – 85	81 → 36	19 → 64	gradiente linear
85 – 91	36	64	isocrática
91 – 92	36 → 81	64 → 19	gradiente linear

Solução amostra: transferir cerca de 7,5 mg de insulina para um frasco que tenha tampa adequada e adicionar 2 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Tampar o frasco e agitar, gentilmente, para dissolução.

Nota: *a Solução amostra pode ser armazenada em temperatura ambiente por até duas horas e em refrigeração por até 12 horas.*

Solução padrão A: dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, das espécies apropriadas de insulina SQR em ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução com uma concentração conhecida de cerca de 3,75 mg/mL.

Solução padrão B: pipetar 1 mL da *Solução padrão A*, transferir para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,01 *M* e homogeneizar.

Solução padrão C: pipetar 1 mL da *Solução padrão B*, transferir para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,01 *M* e homogeneizar.

Nota: *as três soluções padrão podem ser armazenadas em temperatura ambiente por até 12 horas e em refrigerador por até 48 horas.*

Solução de adequação do sistema: proceder conforme descrito para a *Solução de adequação do sistema* no *Método físico-químico* em *Doseamento*.

Ajustar a composição da *Fase móvel* e a duração da eluição isocrática para obter um tempo de retenção de cerca de 31 minutos para a insulina, com a eluição da insulina desamido A-21 pouco antes do início da fase de eluição por gradiente linear. Injetar a *Solução padrão A*, *Solução padrão B* e *Solução padrão C*, registrar os cromatogramas e medir as respostas de pico conforme indicado no *Procedimento*. Calcular o fator X_1 (dez vezes a razão entre as áreas da *Solução padrão B* pela *Solução padrão A*) segundo a expressão:

$$10 \times \left(r_B / r_A \right)$$

em que

r_B = área de resposta de pico obtido para a *Solução padrão B;*
r_A = área de resposta de pico obtido para a *Solução padrão A*.

O valor de X_1 deve estar entre 0,91 e 1,09.

Calcular o fator X_2 (cem vezes a razão entre as áreas da *Solução padrão C* pela *Solução padrão A*) segundo a expressão:

$$100 \times \left(r_C / r_A \right)$$

em que

r_C = área de respostas de pico obtido para a *Solução padrão C;*
r_A = área de respostas de pico obtido para a *Solução padrão A*.

O valor de X_2 deve estar entre 0,7 e 1,3.

Injetar a *Solução de adequação do sistema* e registrar as respostas de pico conforme indicado em *Procedimento*. A resolução, *R*, entre insulina e insulina desamido A-21 é, no mínimo, 2,0. O fator de cauda para o pico de insulina é, no máximo, 1,8.

Nota: *o volume a ser injetado é dependente da resolução do equipamento. Deve ser injetado um volume necessário para obtenção da separação e resolução dos picos.*

Procedimento: injetar um volume de cerca de 20 µL da *Solução amostra*, registrar o cromatograma e medir as áreas de respostas para o pico de insulina principal, o pico de insulina desamido A-21 e picos de quaisquer outras impurezas. Calcular a porcentagem de insulina (%I), na parcela de insulina utilizada segundo a expressão:

$$\%I = 100 \times \left(r_I / r_S \right)$$

em que

r_I = a resposta, em área, sob o pico de insulina.
r_S = a soma das respostas, em área, sob todos os picos.

Calcular a porcentagem de insulina desamido A-21 (%D) na parcela de insulina utilizada, segundo a expressão:

$$\%D = 100 \times \left(r_D / r_S \right)$$

em que

r_D = a resposta, em área, sob o pico de insulina desamido A-21.
r_S = a soma das respostas, em área, de todos os picos.

Calcular a porcentagem de outros compostos relacionados à insulina na parcela de insulina utilizada, segundo a expressão:

$$100 \times (\%I + \%D)$$

No máximo 10,0% de insulina desamido A-21 são encontrados e no máximo 5,0% de outros compostos relacionados com insulina são encontrados. Para insulina derivada de uma única espécie, medir as respostas de quaisquer picos correspondentes à insulina bovina ou suína, e calcular respectivas concentrações como porcentagem de r_s. A quantidade de contaminação cruzada é de, no máximo, 1,0%.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 276 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada grupo diidroxipropano (5 µm a 10 µm) fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Solução de arginina: preparar uma solução de L-arginina em água contendo 1 mg/mL.

Fase móvel: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de *Solução de arginina*, acetonitrila e ácido acético glacial (65:20:15). Fazer ajustes, se necessário.

Solução amostra: transferir cerca de 4 mg de insulina para um pequeno frasco, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e misturar até dissolver. Armazenar essa solução em um refrigerador e utilizar em sete dias.

Solução de resolução: dissolver 4 mg de insulina contendo mais de 0,4% de proteínas de alto peso molecular em 1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Armazenar essa solução em um refrigerador e utilizar em sete dias.

Nota: *insulina contendo a porcentagem indicada de proteínas de alto peso molecular pode ser preparada deixando a insulina em temperatura ambiente durante 5 dias.*

Fazer a cromatografia da *Solução de resolução* injetando 100 µL e registrar as respostas de pico conforme indicado para em *Procedimento*. Os tempos de retenção estão entre 13 e 17 minutos para os complexos poliméricos de insulina, cerca de 17,5 minutos para o dímero covalente de insulina e entre 18 e 22 minutos para o monômero de insulina, com sais eluindo após o monômero de insulina. A razão da altura do pico do dímero covalente de insulina para a altura do vale entre o pico do dímero covalente de insulina e o pico do monômero de insulina não é menor que 2,0.

Procedimento: injetar 100 µL da *Solução amostra*, registrar o cromatograma e medir as áreas de respostas de pico, sem considerar quaisquer picos que tenham tempos de retenção maiores que aquele do monômero de insulina. Calcular a porcentagem de proteínas de alto peso molecular na parcela da insulina utilizada segundo a expressão:

$$\frac{100\sum r_H}{\left(\sum r_H + r_M\right)}$$

em que

$\sum r_H$ = somatória das respostas para todos os picos que tenham tempos de retenção menor que o do monômero de insulina;
r_M = resposta de pico do monômero de insulina (no máximo 1,0% é encontrado).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (5.5.3.1.2). A contagem bacteriana total é de, no máximo, 300 UFC/g, sendo o teste realizado em uma parcela de, , cerca de 0,2 g da amostra, pesada com exatidão.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 10 UE/mg.

DOSEAMENTO

Método físico-químico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada grupo octadecilsilano (1,5 µm a 10 µm), mantida a temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão sulfato de sódio: dissolver 28,4 g de sulfato de sódio anidro em 1000 mL de água, adicionar 2,7 mL de ácido fosfórico e ajustar o pH para 2,3 utilizando etanolamina, se necessário.

Fase móvel: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de *Tampão sulfato de sódio* com acetonitrila (74:26). A acetonitrila é aquecida a uma temperatura igual ou superior a 20 °C para evitar precipitação. Fazer ajustes, se necessário.

Preparação padrão: dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de insulina adequada SQR em ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução com uma concentração conhecida de cerca de 1,5 mg/mL.

Preparação de identificação: preparar uma solução de insulina suína SQR e insulina bovina SQR em ácido clorídrico 0,01 *M*, contendo cerca de 0,6 mg de cada por mL.

Preparação do ensaio: transferir cerca de 15 mg de insulina, pesada com exatidão, para um balão volumétrico de 10 mL, dissolver e diluir com ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução contendo uma concentração de cerca de 1,5 mg/mL.

Solução de adequação do sistema: dissolver cerca de 1,5 mg de insulina em 1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Deixar em temperatura ambiente por não menos que três dias para obter uma solução contendo, no mínimo, 5% de insulina desamido A-21.

Nota: *a Preparação de identificação, a Preparação padrão e a Preparação do ensaio podem ser armazenadas em temperatura ambiente por até 12 horas ou em refrigeração por até 48 horas.*

Fazer a cromatografia da *Preparação padrão* injetando 20 µL e registrar as respostas de pico conforme indicado em *Procedimento*. O desvio padrão relativo para as replicatas de injeções é, no máximo, 1,6%. Fazer a cromatografia injetando 20 µL da *Solução de adequação do sistema* e registrar as respostas de pico conforme indicado em *Procedimento*. A resolução, *R*, entre insulina e insulina desamido A-21 é, no mínimo, 2,0. O fator de cauda para o pico de insulina é, no máximo, 1,8.

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais (cerca 20 µL) da *Preparação do ensaio*, da *Preparação de identificação* e da *Preparação padrão*, registrar os cromatogramas e medir as respostas de pico para insulina e insulina desamido A-21, utilizando o cromatograma da *Preparação de identificação* para identificar os picos de insulina. Para insulina derivada de uma única espécie, calcular a quantidade em base não seca, em unidades de insulina por mg, de insulina na *Preparação do ensaio* segundo a expressão:

$$\left(\frac{CS}{CU}\right)\cdot\left(\frac{\sum rU}{\sum rS}\right)$$

em que

CS = concentração de insulina SQR na *Preparação padrão* (unidades de insulina/mL);
CU = concentração de insulina na *Preparação de ensaio* (mg/mL);
$\sum rU$ e $\sum rS$ = somatório das áreas dos picos de insulina e insulina desamido A-21 obtidas, respectivamente, dos cromatogramas da *Preparação de ensaio* e da *Preparação padrão*.

Do valor obtido no teste *Perda por dessecação*, calcular a quantidade em base seca. Para insulina derivada da mistura de bovina com suína, calcular a quantidade total como o somatório das quantidades das insulinas determinadas, separadamente.

Método biológico

Ensaios de insulina

A manifestação mais proeminente da atividade da insulina, uma diminuição abrupta da glicose sanguínea, foi a base para ensaios biológicos do tempo da primeira utilização clínica. O procedimento, ainda que relativamente trabalhoso, tem o grande mérito de refletir o efeito em um paciente diabético. O advento de métodos físico-químicos sofisticados e ainda práticos (por exemplo, cromatografia a líquido de alta eficiência) para medir, quantitativamente, a potência da insulina resultou em um teste resumido mais exato e preciso para insulina e produtos relacionados. Contudo, a bioidentidade da insulina e de seus produtos não pode ser acessada por esses métodos. Assim, um teste quantitativo em coelhos está incluído nessa monografia e sua utilização é solicitada em monografias apropriadas.

O *Método quantitativo de glicemia de coelhos* é utilizado para determinar a potência dos padrões de referência de insulina, para a validação da estabilidade das novas preparações de insulina e para determinar as atividades específicas dos análogos de insulina.

Método quantitativo de glicemia de coelhos

Padrões de referência: glicose SQR, insulina SQR, insulina bovina SQR, insulina humana SQR, insulina suína SQR.

Diluente: preparar uma solução aquosa contendo 0,1% a 0,25% (p/v) de cresol ou fenol, 1,4% a 1,8% (p/v) de glicerina e ácido clorídrico suficiente para produzir um pH entre 2,5 e 3,5, a menos que indicado de outra forma em uma monografia individual.

Solução estoque padrão: dissolver uma quantidade adequada e pesada com exatidão de insulina (*Padrão de referência*) ou um frasco de insulina (*Padrão de referência*) liofilizada de espécies apropriadas no *Diluente* para fazer a *Solução estoque padrão* contendo 40 unidades de insulina por mL e possuindo um pH entre 2,5 e 3,5, a não ser que indicado de outra maneira em monografia individual. Armazenar em local fresco, protegida de congelamento; deve ser utilizada em seis meses.

Soluções padrão: diluir parcelas de *Solução estoque padrão* com *Diluente* para obter duas soluções, uma contendo uma unidade de insulina por mL (*Solução padrão 1*) e a outra contendo duas unidades de insulina por mL (*Solução padrão 2*).

Solução estoque do ensaio: proceder como indicado para *Solução estoque padrão*, exceto para utilização de quantidade adequada da preparação em análise no lugar da insulina SQR. A *Solução estoque do ensaio* contém cerca de quarenta unidades de insulina por mL.

Soluções de ensaio: diluir parcelas da *Solução estoque do ensaio* com *Diluente* para obter duas diluições da preparação do teste, uma das quais se espera que contenha uma unidade de insulina por mL (*Solução de ensaio 1*), baseando-se na suposta potência, e a outra que contenha duas unidades de insulina por mL (*Solução de ensaio 2*). No caso de uma injeção de insulina neutra, ajustar para um pH de 2,5 a 3,5, antes de realizar as diluições.

Doses das soluções a serem injetadas: selecionar, baseando-se em testes ou experiências anteriores, a dose das diluições a serem injetadas, cujo volume geralmente estará entre 0,30 mL e 0,50 mL. Para cada animal, o volume da *Solução padrão* é o mesmo que o da *Solução de ensaio*.

Preparação do animal: selecionar coelhos adequados e saudáveis, cada um pesando, no mínimo, 1,8 kg. Manter os coelhos no laboratório por não menos que uma semana antes da utilização no ensaio, mantendo-os em uma alimentação uniforme adequada, com água disponível em todos os momentos.

Procedimento: separar os coelhos em quatro grupos iguais, preferencialmente não menores que seis coelhos cada. No dia anterior, cerca de 20 horas antes do ensaio, fornecer a cada coelho uma

quantidade de alimentos a ser consumida no prazo de seis horas. Seguir o mesmo esquema de alimentação antes de cada dia de teste. Durante o ensaio, retirar todos os alimentos até depois da amostra de sangue final ser coletada. Manipular os coelhos com cuidado para evitar a excitação excessiva e injetar, por via subcutânea, as doses indicadas na **Tabela 1.** A segunda injeção deve ser feita no dia seguinte à primeira injeção ou, no máximo, uma semana depois. O tempo entre a primeira e a segunda injeção é o mesmo para todos os coelhos.

Tabela 1 – Doses a serem injetadas nos coelhos por via subcutânea de acordo com o Método quantitativo de glicemia de coelhos.

Grupo	***Primeira injeção***	***Segunda injeção***
1	*Solução padrão 2*	*Solução de ensaio 1*
2	*Solução padrão 1*	*Solução de ensaio 2*
3	*Solução de ensaio 2*	*Solução padrão 1*
4	*Solução de ensaio 1*	*Solução padrão 2*

Amostras de sangue: uma hora ± cinco minutos e duas horas e meia ± cinco minutos após a injeção, coletar de cada coelho uma amostra adequada de sangue de uma veia marginal da orelha. O sangue também pode ser colhido de forma eficaz a partir da artéria central auricular.

Determinação do teor de glicose: determinar o teor de glicose das amostras de sangue por meio de um procedimento adequado que seja adaptado à análise automatizada. O procedimento a seguir pode ser usado.

Solução anticoagulante: dissolver 1 g de edetato dissódico e 200 mg de fluoreto de sódio em 1000 mL de água e misturar.

Preparações padrão de glicose: transferir concentrações conhecidas de glicose SQR a recipientes adequados e diluir, quantitativamente e por etapas, com solução anticoagulante (1:9) para obter uma série de *Preparações padrão de glicose* que contenham entre 20 e 100 mg por 100 mL, com concentrações conhecidas semelhantes às concentrações das amostras de sangue dos coelhos.

Preparações de teste: pipetar e transferir para recipientes separados e adequados 0,1 mL de cada amostra de sangue e 0,9 mL da *Solução anticoagulante*.

Procedimento: submeter as *Preparações de teste* à diálise através de uma membrana semipermeável por um tempo suficiente para que a glicose atravesse a membrana em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) contendo glicose oxidase, peroxidase de rabanete (enzima peroxidase HPR), cloridrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona SR e *N*,*N*-dimetilanilina. As absorvâncias das *Preparações de teste* são determinadas a 600 nm em um colorímetro. As absorvâncias das *Preparações padrão de glicose* são igualmente determinadas, no início e no final de cada execução.

Calcular a resposta de cada coelho para cada injeção, a partir da soma dos dois valores glicêmicos. Calcular as diferenças individuais, *y*, subtraindo as respostas conforme indicado na **Tabela 2**, não considerando a ordem cronológica.

Quando os dados para um ou mais coelhos estão faltando em um ensaio, não usar o intervalo de confiança de fórmulas descritas na monografia, mas procurar ajuda estatística. Os dados podem, ainda, ser analisados com análise adequada da variância.

Quando o número de coelhos, *f*, utilizado no ensaio é o mesmo em cada grupo, determinar a soma de *y* para cada grupo e calcular $T_a = -T_1 + T_2 + T_3 - T_4$ e $T_b = T_1 + T_2 + T_3 + T_4$. O logaritmo da potência

relativa das diluições teste é M' = 0,301 T_a/T_b. A potência da injeção em unidades por mg equivale a antilog (log R + M'), em que R = V_S/V_U, V_S é o número de unidades por mL de *Solução padrão* e V_U é o número de mg de insulina por mL da *Solução de ensaio* correspondente.

Determinar o intervalo de confiança de 95% para o log-potência relativa utilizando o Teorema de Fieller (veja o apêndice no final da monografia e *Procedimentos estatísticos aplicáveis aos ensaios biológicos* descritos no capítulo **8.**). Se o intervalo de confiança é maior do que 0,082, o que corresponde a P = 0,95, para limites de confiança de cerca de ± 10,0% da potência computada, repetir o teste até que os dados combinados de dois ou mais ensaios, redeterminados como descrito em *Procedimentos estatísticos aplicáveis aos ensaios biológicos*, cumprirem esse limite aceitável.

Tabela 2 – Registro dos cálculos das respostas dos coelhos no *Método quantitativo de glicemia de coelhos*.

Grupo	***Diferenças***	***Resposta individual (y)***	***Resposta total (T)***	***Desvios padrão das diferenças (S)***
1	*Solução padrão 2 – Solução de ensaio 1*	y_1	T_1	S_1
2	*Solução de ensaio 2 – Solução padrão 1*	y_2	T_2	S_2
3	*Solução de ensaio 2 – Solução padrão 1*	y_3	T_3	S_3
4	*Solução padrão 2 – Solução de ensaio 1*	y_4	T_4	S_4

Bioidentidade

Cumprir as exigências do teste de bioidentidade sob ensaios de insulina. Proceder como indicado pelo *Método quantitativo de glicemia de coelhos* com as alterações a seguir.

Procedimento: separar os coelhos em quatro grupos iguais de dois coelhos cada.

Proceder com os cálculos conforme indicado no *Método quantitativo de glicemia de coelhos*, mas sem necessidade de determinar o intervalo de confiança do log-potência relativa, M'.

Se o valor da potência obtido é, no mínimo, 15 unidades/mg, a exigência do teste de bioidentidade está atendida. Se o valor da potência é inferior a 15 unidades/mg, repetir o teste utilizando mais oito coelhos. Se a potência média dos dois conjuntos de testes for, no mínimo, 15 unidades por mg, a exigência do teste foi atendida.

Apêndice - Teorema de Fieller para determinação do intervalo de confiança para uma razão

Essa versão do Teorema de Fieller aplica-se ao caso em que o numerador e o denominador não são correlacionados. No uso dessa equação assume-se que o numerador e o denominador são normalmente distribuídos e os grupos de coelhos são de tamanho igual.

Logo, o intervalo de confiança de 95% para a relação é:

$$(L,U) = \frac{M' \pm \frac{t}{T_b}\sqrt{(1-g)S_N^2 + (M')^2 S_D^2}}{1-g}$$

em que *f* (graus de liberdade do erro padrão) = 4 (k - 1), *k* é a quantidade de coelhos em um grupo, *t* é o percentil 97,5 superior da distribuição *t* com graus *f* de liberdade, e:

$$g = \frac{t^2 S_D^2}{T_b^2}$$

Se $g \geq 1$, o denominador não é significativamente diferente de 0 e a fórmula não funciona.

$$S_N = 0{,}301\sqrt{k}\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + S_4^2}$$

$$S_D = \sqrt{k}\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + S_4^2}$$

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA HUMANA

$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$; 5807,58
insulina humana; 04918
[*11061-68-0*]

Insulina humana é uma proteína correspondente a um princípio ativo elaborada no pâncreas humano que afeta o metabolismo dos carboidratos (particularmente glicose), lípides e proteínas. É derivada por modificação enzimática da insulina do pâncreas suíno de modo a alterar a sequência de aminoácidos apropriadamente ou produzida por síntese microbiana via processo de DNA recombinante. A quantidade, calculada na base seca, é, no mínimo, 27,5 unidades de insulina humana em cada miligrama. O teor de pró-insulina de insulina humana derivada de suínos é no máximo de 10 ppm. O teor de proteínas advindas de célula hospedeira de insulina humana derivada de um processo de DNA recombinante, determinado por um método apropriado e validado, é no máximo de 10 ppm. O teor de DNA derivado da célula hospedeira ou do vetor e o limite de insulina humana derivada de um processo de DNA recombinante que utiliza células eucariontes são determinados por um método validado.

Nota: *uma unidade de insulina humana equivale a 0,0347 mg de insulina humana pura.*

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Preparação do ensaio*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Preparação padrão*.

B. Determinar os fragmentos peptídicos, utilizando o seguinte procedimento de mapeamento de peptídeos. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (1,5 a 10 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão sulfato: misturar volumes iguais de sulfato de amônio 2 *M* e ácido sulfúrico 0,5 *M* e filtrar.

Solução enzimática: preparar uma solução de protease *Staphylococcus aureus* V-8 em água, contendo uma atividade de 500 unidades por mililitro.

Tampão HEPES: dissolver 2,38 g de HEPES (ácido *N*-2-hidroxietilpiperazina-*N*'-2-etanossulfônico) em cerca de 90 mL de água em um balão volumétrico de 100 mL. Ajustar o pH para 7,5 utilizando hidróxido de sódio 5 *M*. Diluir com água até completar o volume do balão e misturar.

Eluente A: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de 100 mL de acetonitrila, 700 mL de água e 200 mL de *Tampão sulfato*.

Eluente B: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de 400 mL de acetonitrila, 400 mL de água e 200 mL de *Tampão sulfato*.

Solução padrão de digestão: dissolver cerca de 6 mg de insulina humana SQR em 3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* e transferir 500 µL da solução resultante para um frasco limpo. Adicionar 2 mL de *Tampão HEPES* e 400 µL de *Solução enzimática* e incubar a 25 °C durante seis horas. Interromper a digestão pela adição de 2,9 mL de *Tampão sulfato*.

Solução teste de digestão: para 1 mg de insulina humana, adicionar 500 µL de ácido clorídrico 0,01 *M* e misturar para dissolver. Proceder conforme indicado para *Solução padrão de digestão*, iniciando por "adicionar 2 mL de *Tampão HEPES*".

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0	90	10	equilíbrio
0 – 60	90 → 30	10 → 70	gradiente linear
60 – 65	30 → 0	70 → 100	gradiente linear
65 – 70	0	100	isocrática
70 – 71	0 → 90	100 → 10	gradiente linear
71 – 86	90	10	reequilíbrio

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais de *Solução padrão de digestão* e *Solução teste de digestão*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. O perfil cromatográfico da *Solução teste de digestão* corresponde àquele da *Solução padrão de digestão*. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. O fator de cauda é, no máximo, 1,5. A resolução entre os picos do fragmento de digestão II e do fragmento de digestão III é, no mínimo, 3,4.

Nota: *fragmento I elui ao mesmo tempo na insulina derivada de suínos e insulina humana; fragmento II elui ao mesmo tempo em todas as insulinas; e fragmento III elui ao mesmo tempo na insulina derivada de bovinos e suínos.*

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar, com exatidão, cerca de 200 mg e secar a 105 °C por 16 horas. No máximo 10,0%.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)**. Determinar o teor de zinco em, exatamente, cerca de 10 mg da amostra. No máximo 1,0% para insulina humana anidra.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Substâncias relacionadas* na monografia de *Insulina*, com exceção para a utilização do seguinte *Gradiente da Fase Móvel:* o programa requer inicialmente eluição isocrática, por cerca de 36 minutos com a *Fase móvel* consistindo de uma mistura de 78% de *Eluente A* e 22% de *Eluente B*, seguida da eluição por gradiente linear. Posteriormente, o sistema retorna para as condições iniciais de 78% de *Eluente A* e 22% de *Eluente B*. Ajustar a composição da *Fase móvel* de modo que o tempo de retenção do pico principal de insulina humana seja entre 15 e 25 minutos. O teor de insulina desamido A-21 e de outros compostos relacionados à insulina é no máximo 2% para cada uma das quantidades totais de insulina e de compostos relacionados.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Proceder conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina*. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (5.5.3.1.2). No máximo 300 UFC/g, sendo o teste feito em cerca de 0,2 g da amostra, pesada com exatidão.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 10 UE/mg de insulina humana.

DOSEAMENTO

Método físico-químico

Proceder conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Insulina*. Utilizar a mesma *Fase móvel*, *Preparação padrão*, *Preparação de ensaio*, *Solução de resolução*, o sistema cromatográfico e o *Procedimento* descritos na monografia de *Insulina*, com exceção para utilizar insulina humana SQR e qualquer outro substituto de insulina humana para insulina do começo ao fim.

*Fragmento I consiste de aminoácidos A5 a A17 e B1 a B13; fragmento II consiste de aminoácidos A18 a A21 e B14 a B21; fragmento III consiste de aminoácidos B22 a B30; fragmento IV consiste de aminoácidos A1 a A4. A refere-se à cadeia-A da insulina humana e B refere-se à cadeia B da insulina humana.

Bioidentidade

Cumpre o teste de *Bioidentidade* da monografia de *Insulina*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA HUMANA INJETÁVEL

Insulina humana injetável é uma solução isotônica e estéril de insulina humana. Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade rotulada, expressa em unidades de insulina em cada mL.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal no cromatograma da *Preparação de ensaio*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal no cromatograma da *Preparação padrão*.

Nota: *pode ser necessário injetar a mistura da Preparação de ensaio e Preparação de identificação.*

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** ou *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Entre 10 µg e 40 µg para cada 100 UI de insulina para espécies apropriadas.

ENSAIOS DE PUREZA

Contaminação por partículas (5.1.7). Cumpre as exigências para injeções de pequeno volume para ambos os métodos.

pH (5.2.19). 7,0 a 7,8. Determinar potenciometricamente.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Preparar a *Solução de arginina, Fase móvel, Solução de adequação de sistema* e o sistema cromatográfico conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina* e utilizar o mesmo *Procedimento*. Preparar a *Solução teste* como descrito a seguir. No máximo 2%.

Solução de teste: quantitativamente adicionar 4 µL de ácido clorídrico 6 *M* por mililitro de um volume de injeção medido com exatidão e misturar.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Contém, no máximo, 80 UE/100 UI de insulina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Preparar a *Fase móvel, Preparação de identificação, Preparação padrão, Solução de adequação do sistema* e sistema cromatográfico conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Insulina*. Preparar a *Preparação de ensaio* conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Insulina Injetável*.

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais (cerca de 20 µL) da *Preparação de ensaio*, da *Preparação de identificação*, e da *Preparação padrão* no cromatógrafo, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos da insulina e insulina desamido A-21, utilizando o cromatograma da *Preparação de identificação* para identificar os picos de insulina. Para injeção de insulina preparada de uma única espécie, calcular a quantidade, em unidades de insulina por mL, da injeção tomada, segundo a expressão:

$$C \times D \times \left(\frac{\sum rU}{\sum rS} \right)$$

em que

C = concentração, em unidades de insulina por mL, de insulina SQR na *Preparação padrão*;
D = fator de diluição;
$\sum rU$ e $\sum rS$ = somatório das áreas sob os picos de insulina e insulina desamido A-21 obtidas respectivamente dos cromatogramas da *Preparação de ensaio* e da *Preparação padrão*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes fechados, protegidos da luz e em refrigerador. Evitar o congelamento.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA HUMANA ISOFANA SUSPENSÃO

Insulina humana isofana suspensão é uma suspensão estéril de cristais de insulina humana zinco combinada com sulfato protamina em água tamponada para a injeção, combinados de uma maneira tal que a fase sólida da suspensão é composta por cristais de insulina humana, protamina e zinco. O sulfato de protamina é preparado a partir do esperma ou a partir dos testículos em maturação de peixes pertencentes ao gênero *Oncorhynchus* Suckley ou Salmo Linné (família Salmonidae). Contém, calculado com base na soma de seus componentes de insulina e insulina desamido, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada no rótulo, expressa em unidades de insulina humana em cada mililitro.

IDENTIFICAÇÃO

Centrifugar 10 mL da suspensão a 1500 g por 10 minutos. Determinar o teor de insulina no sobrenadante conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Insulina*. A concentração de insulina é, no máximo, 1,0 UI/mL.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* na monografia de *Insulina*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco (5.3.3.4). Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** ou *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Entre 21 µg e 40 µg para cada 100 UI de insulina humana.

Zinco em solução. Centrifugar uma porção de suspensão suficiente para o teste e determinar o teor de zinco no sobrenadante límpido. Entre 20% e 65% do teor de zinco total.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). Entre 7,0 e 7,5.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Proceder conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina injetável*. No máximo 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre as exigências, quando testado como indicado para *Filtração por membranas* em *Teste de esterilidade do produto a ser examinado*, e a suspensão a ser filtrada imediatamente depois de ter sido reduzido a uma solução clara pela adição de um recém preparado 1 em 100 solução de ácido ascórbico em *Fluido A*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Contém, no máximo, 80 UE/100 UI de insulina humana.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Insulina*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA HUMANA ISOFANA SUSPENSÃO E INSULINA HUMANA INJETÁVEL

Insulina humana isofana suspensão e insulina humana injetável é uma suspensão estéril tamponada de insulina humana, complexada com sulfato de protamina, em uma solução de insulina humana.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Preparação do ensaio*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Preparação padrão.*

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** ou *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Entre 0,02 mg e 0,04 mg para cada 100 UI de insulina humana.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). Entre 7,0 e 7,8, determinado potenciometricamente.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Preparar a *Solução de arginina*, *Fase móvel*, *Solução de adequação de sistema* e o sistema cromatográfico conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina* e utilizar o mesmo *Procedimento*. Preparar a *Solução teste* como descrito a seguir. No máximo 3,0%.

Solução teste: quantitativamente adicionar 4 µL de ácido clorídrico 6 *M* por mililitro de um volume de injeção medido com exatidão e misturar.

Conteúdo de insulina humana solúvel.

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Preparar a *Fase móvel*, a *Solução de adequação de sistema* e o sistema cromatográfico conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Insulina*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução teste de insulina solúvel: manter a temperatura entre 24 °C e 26 °C durante todo o procedimento. Transferir 5 mL da insulina humana injetável para um tubo de centrífuga. Adicionar 20 µL de hidróxido de sódio *M* e ajustar com ácido clorídrico 0,05 *M* ou hidróxido de sódio 0,05 *M* para um pH entre 8,18 e 8,22 se a concentração total de zinco for aproximadamente 20 µg/mL, ou ajustar para um pH entre 8,33 e 8,37 se a concentração total de zinco for 30 µg/mL. Registrar o volume, em µL, de ácido ou base requerido para ajustar o pH. Misturar e deixar em repouso durante uma hora. Centrifugar, transferir o sobrenadante para outro tubo de centrífuga e repetir a centrifugação. Transferir 2 mL do sobrenadante para outro tubo, adicionar 5 µL de ácido clorídrico 9,6 *M* e misturar.

Solução teste de insulina total: transferir 2 mL da insulina humana injetável para recipiente apropriado, adicionar 5 µL de ácido clorídrico 9,6 *M* e deixar a suspensão clarificar. Diluir a solução

resultante com ácido clorídrico 0,01 *M* para a mesma concentração teórica de insulina da *Solução teste de insulina solúvel* (por exemplo, se a insulina humana injetável for rotulada por conter 20% de insulina solúvel, o fator de diluição é 100/20 = 5).

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais (cerca de 20 µL) da *Solução teste de insulina solúvel* e da *Solução teste de insulina total* no cromatógrafo, registrar os cromatogramas. Medir as respostas de pico para insulina e insulina desamido A-21. Calcular a quantidade de insulina humana solúvel como uma porcentagem de teor de insulina total da insulina humana injetável segundo a expressão:

$$\left(\frac{100}{D}\right)\times\left[\frac{(5020+VA)}{5000}\right]\times\left(\frac{rS}{rT}\right)$$

em que

D = fator de diluição para a *Solução teste de insulina total*;
VA = número de µL adicionado para ajustar o pH da *Solução teste de insulina solúvel*;
rS e rT = respostas respectivamente da *Solução teste de insulina solúvel* e a *Solução teste de insulina total*.

A porcentagem de insulina humana solúvel está no intervalo (L ± 5), no qual L é a porcentagem de insulina humana solúvel especificada no rótulo do produto.

B. Preparar a *Fase móvel*, a *Solução de adequação de sistema* e o sistema cromatográfico conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Insulina*.

Preparar as soluções descritas a seguir.

Tampão Tris 0,1 M: dissolver (3,54 ± 0,01) g de cloridrato de trometamina e (3,34 ± 0,01) g de trometamina em 500 mL de água. O pH do *Tampão Tris 0,1 M* deve estar entre 8,15 e 8,35.

Solução teste de insulina solúvel: diluir um volume adequado da insulina humana injetável em *Tampão Tris 0,1 M* para obter uma solução contendo cerca de 6 unidades de insulina humana solúvel por mililitros de insulina (por exemplo, 2 mL de 70/30 suspensão de insulina humana isofana e insulina humana injetável contendo 100 unidades de insulina humana por mililitro seria diluída com 8 mL de *Tampão Tris 0,1 M* para obter um filtrado que contenha 6 unidades de insulina humana de insulina solúvel por mililitro). Imergir o recipiente em banho-maria a (25 ± 1) °C durante (30 ± 2) minutos. Imediatamente, passar essa solução por um filtro de diâmetro de poro de 0,2 µm utilizando seringa descartável. Transferir duas partes do filtrado para um recipiente adequado, adicionar uma parte de ácido clorídrico 0,2 *M* (por exemplo, o fator de diluição para a *Solução teste de insulina solúvel* que contenha 30% de insulina solúvel é 5 × 3/2 = 7,5).

Solução teste de insulina total: para cada mililitro da insulina humana injetável, adicionar 3 µL de ácido clorídrico 9,6 *M*, misturar e deixar a suspensão clarificar. Diluir a solução resultante com ácido clorídrico 0,01 *M* para quatro unidades de insulina humana por mililitro (por exemplo, se o produto está rotulado como contendo um total de 100 unidades de insulina humana por mililitro, o fator de diluição é 25). Calcular a quantidade de insulina humana solúvel como uma porcentagem de teor de insulina total da insulina humana injetável segundo a expressão:

$$\left(\frac{100DS}{DT}\right)\times\left(\frac{rS}{rT}\right)$$

em que

DS e DT = fatores de diluição para *Solução teste de insulina solúvel* e *Solução teste de insulina total*, respectivamente;
rS e rT = respostas de pico obtidas respectivamente da *Solução teste de insulina solúvel* e da *Solução teste de insulina total*.

A porcentagem de insulina humana solúvel está no intervalo (L ± 5), no qual L é a porcentagem de insulina humana solúvel especificada no rótulo do produto.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 80 UE/100 UI de insulina humana.

DOSEAMENTO

A determinação da quantidade é baseada na somatória da própria insulina e componentes da insulina desamido, conforme determinada em *Doseamento* na monografia de *Insulina Humana Injetável*. No mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade especificada no rótulo, expressa em unidades de insulina humana em cada mL.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Manter em recipiente fechado de dose múltipla, fornecido pelo fabricante. Conservar em refrigerador, ao abrigo da luz solar e evitar o congelamento.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA HUMANA ZINCO SUSPENSÃO

Insulina humana zinco suspensão é uma suspensão estéril de insulina humana em água tamponada para a injeção, modificada pela adição de um sal de zinco adequado de modo que a fase sólida da suspensão é constituída por uma mistura de insulina cristalina e amorfa em uma razão de cerca de sete partes de cristais e de três partes de material amorfo. Contém, calculado com base na soma dos seus componentes de insulina e insulina desamido, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada no rótulo, expressa em unidade de insulina humana por mililitro.

IDENTIFICAÇÃO

A. A insulina no sobrenadante cumpre o teste de *Identificação* da monografia *Insulina humana isofana suspensão*.

B. Centrifugar uma quantidade de suspensão representando 1000 unidades de insulina e descartar o sobrenadante. Suspender o resíduo em 8,4 mL de água, rapidamente acrescentar 16,6 mL de acetona tamponada SR, agitar vigorosamente e centrifugar dentro de três minutos após a adição da acetona tamponada. Desprezar o sobrenadante, repetir o tratamento com água e acetona tamponada SR, centrifugar e descartar o sobrenadante. Dissolver o resíduo cristalino em 5 mL de ácido clorídrico diluído (1 em 100). A insulina não extraída por acetona tamponada SR, determinada por um método adequado, está entre 63% e 77% do teor total de insulina de uma quantidade igual de suspensão.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Entre 7,0 e 7,8. Determinar potenciometricamente.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** ou *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. A quantidade de zinco total é entre 0,12 mg e 0,25 mg para cada 100 UI de insulina.

Zinco em solução. Centrifugar uma porção de suspensão suficiente para o teste e determinar o teor de zinco no sobrenadante límpido. Entre 20% e 65% do teor de zinco total.

ENSAIO DE PUREZA

Limite de proteínas de alto peso molecular. Proceder conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina injetável*. No máximo 1,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 80 UE/100 UI de insulina humana.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Insulina*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Manter em recipiente fechado de dose múltipla, fornecido pelo fabricante. Conservar em refrigerador, ao abrigo da luz solar e evitar o congelamento.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA HUMANA ZINCO SUSPENSÃO ESTENDIDA

Insulina humana zinco suspensão estendida é uma suspensão estéril de insulina humana em água tamponada para a injeção, modificada pela adição de um sal de zinco adequado de modo que a fase sólida da suspensão é predominantemente cristalina. Contém, calculado com base na soma dos seus componentes de insulina e insulina desamido, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada no rótulo, expressa em unidades de insulina humana por mililitro.

IDENTIFICAÇÃO

A. A insulina no sobrenadante cumpre o teste de *Identificação* da monografia *Insulina humana isofana suspensão*.

B. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia de *Insulina humana zinco suspensão*.

C. A concentração de insulina, determinada por um método descrito na monografia de *Insulina*, não é inferior a 90% do conteúdo total de insulina.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** ou *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Entre 0,12 mg e 0,25 mg para cada 100 UI de insulina.

Zinco em solução. Centrifugar uma porção de suspensão suficiente para o teste e determinar o teor de zinco no sobrenadante límpido. Entre 20% e 65% do teor de zinco total.

ENSAIO DE PUREZA

pH (5.2.19). Entre 7,0 e 7,8.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Proceder conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina injetável*. No máximo 1,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 80 UE/100 UI de insulina humana.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Insulina injetável*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Observar a legislação vigente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA INJETÁVEL

Insulina injetável é uma solução isotônica e estéril de insulina. Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada no rótulo, expressa em unidades de insulina.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Preparação de ensaio*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Preparação de identificação*

Nota: *pode ser necessário injetar a mistura da Preparação de ensaio e Preparação de identificação.*

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)** ou *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Entre 10 µg e 40 µg para cada 100 UI de insulina para espécies apropriadas.

ENSAIO DE PUREZA

Contaminação por partículas (5.1.7). Cumpre as exigências para injeções de pequeno volume. Aplicar ambos os métodos.

pH (5.2.19). 7,0 a 7,8. Determinar potenciometricamente.

Limite de proteínas de alto peso molecular. Preparar a *Solução de arginina*, *Fase móvel*, *Solução de adequação de sistema* e o sistema cromatográfico conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* na monografia de *Insulina* e utilizar o mesmo *Procedimento*. Preparar a *Solução teste* como descrito a seguir. No máximo 2%.

Solução teste: adicionar quantitativamente 4 µL de ácido clorídrico 6 *M* por mililitro de um volume de injeção medido com exatidão e homogeneizar.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 80 UE/100 UI de insulina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Preparar a *Fase móvel*, *Preparação de identificação*, *Preparação padrão*, *Solução de adequação de sistema* e o sistema cromatográfico conforme descrito em *Doseamento* da monografia de *Insulina*.

Nota: *a Preparação de identificação, Preparação padrão e Preparação de ensaio podem ser armazenadas em temperatura ambiente por até 12 horas ou em refrigeração por até 48 horas.*

Preparação de ensaio 1: (para injeção rotulada como contendo 40 UI/mL) adicionar 2,5 µL de ácido clorídrico 9,6 *M* por mL de um volume medido com exatidão da injeção. Deixar a suspensão, se presente, clarificar e misturar.

Preparação de ensaio 2: (para injeção rotulada como contendo 100 UI/mL) adicionar 2,5 µL de ácido clorídrico 9,6 *M* por mL de um volume medido com exatidão da injeção. Deixar a suspensão, se presente, clarificar e homogeneizar. Pipetar 2 mL dessa solução e transferir para um balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,01 *M* e homogeneizar.

Nota: *coleta de diversos pacotes de unidades pode ser necessária para obter volume suficiente do material de teste para a Preparação de ensaio 2.*

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais (cerca de 20 µL) da *Preparação de ensaio*, da *Preparação de identificação* e da *Preparação padrão* no cromatógrafo, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos da insulina e insulina desamido A-21, utilizando o cromatograma da *Preparação de identificação* para identificar os picos de insulina. Para injeção de insulina preparada de uma única espécie, calcular a quantidade, em unidades de insulina por mL, da injeção tomada segundo a expressão:

$$C \times D \times \left(\frac{\sum rU}{\sum rS} \right)$$

em que

C = concentração, em unidades de insulina por mL, de insulina SQR na *Preparação padrão*;
D = fator de diluição;
$\sum rU$ e $\sum rS$ = somatório das áreas sob os picos de insulina e insulina desamido A-21 obtidas respectivamente dos cromatogramas da *Preparação de ensaio* e da *Preparação padrão*.

Nota: *para insulina derivada da mistura de bovina e suína, calcular a quantidade total como o somatório das quantidades das insulinas derivadas de bovinos e suínos, determinadas como indicado acima.*

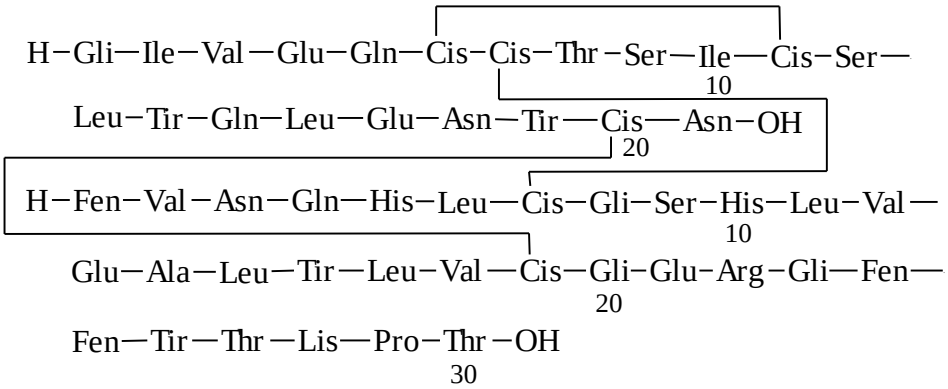
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Manter em recipiente fechado de dose múltipla, fornecido pelo fabricante. Conservar em refrigerador, ao abrigo da luz solar e evitar o congelamento.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

INSULINA LISPRO



$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$; 5807,58
insulina lispro; 04920
28B-L-lisina-29B-L-prolina
[*133107-64-9*]

Insulina lispro é idêntica em estrutura à insulina humana, exceto pelo fato de conter lisina e prolina nas posições 28 e 29, respectivamente, da cadeia B, enquanto esta sequência é invertida em insulina humana. Insulina lispro é produzida por síntese microbiana através de um processo de DNA recombinante. A quantidade, calculada na base seca, é igual ou superior a 27 unidades de insulina lispro por miligrama. O teor de pró-insulina lispro, determinado por um método adequado, é no máximo de 10 ppm. O teor de proteína derivado da célula hospedeira, determinado por um método adequado e validado, é no máximo de 10 ppm.

Nota: *uma unidade de insulina lispro equivale a 0,0347 mg de insulina lispro pura.*

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Preparação de ensaio*, obtido no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Preparação padrão*.

B. Determinar os fragmentos de peptídeos, utilizando o seguinte procedimento de mapeamento peptídico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Preparar o *Tampão sulfato*, *Tampão HEPES* e *Solução teste de digestão*, conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Insulina humana*. Utilizar o procedimento descrito na mesma monografia. Preparar a *Solução padrão de digestão* como descrito a seguir.

Solução padrão de digestão: proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Insulina humana*, exceto para o uso insulina lispro SQR, ao invés da insulina humana SQR.

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir. Preparar *Eluente A* e *Eluente B*, conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Insulina humana*; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 3	95	5	isocrática

3 - 30	95 → 41	5 → 59	gradiente linear
30 - 35	41 → 20	59 → 80	gradiente linear
35 - 40	20 → 95	80 → 5	retorno ao inicial
40 - 50	95	5	reequilíbrio

CARACTERÍSTICAS

Perda por dessecação (5.2.9.1). Pesar, com exatidão, cerca de 300 mg da amostra e secar a 105 °C por 16 horas. No máximo, 10,0%.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Teor de zinco. Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas* **(5.3.3.4)**. Determinar o teor de zinco em cerca de 20 mg da amostra. Entre 0,30% e 0,60%, em relação à base seca.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de proteínas de alto peso molecular. Proceder conforme descrito em *Limite de proteínas de alto peso molecular* da monografia *Insulina*. No máximo 0,25%.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta* eficiência **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (1,5 µm a 10 µm), mantida a temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Diluente: proceder conforme descrito em *Doseamento*.

Eluente A: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de *Diluente* e acetonitrila (82:18).

Eluente B: preparar uma mistura filtrada e desgaseificada de *Diluente* e acetonitrila (50:50).

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

Tempo (minutos)	***Eluente A (%)***	***Eluente B (%)***	***Eluição***
0 - 3	95	5	isocrática
3 - 30	95 → 41	5 → 59	gradiente linear
30 - 35	41 → 20	59 → 80	gradiente linear
35 - 40	20 → 95	80 → 5	retorna ao estado inicial
40 - 50	95	5	reequilíbrio

Solução de adequação do sistema: dissolver quantidade, pesada com exatidão, da insulina lispro em ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução contendo cerca de 3,5 mg por mL. Deixar em repouso à temperatura ambiente para obter uma solução contendo entre 0,8% e 11% de insulina lispro desamido A-21.

Solução teste: dissolver cerca de 3,5 mg de insulina lispro em 1 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*. Guardar a solução por, no máximo, 56 horas no refrigerador.

Procedimento: proceder conforme descrito no *Procedimento* do teste de *Substâncias relacionadas* da monografia *Insulina*. No máximo 1,0% da insulina lispro desamido A-21; no máximo 0,5% de qualquer outra substância relacionada à insulina lispro; no máximo 2,0% de impurezas totais, exceto insulina lispro desamido A-21.

Ajustar a composição da *Fase móvel* e a duração da eluição isocrática para obter um tempo de retenção de cerca de 41 minutos para a insulina lispro, com insulina lispro desamido A-21 eluindo perto do início da fase de gradiente linear. Injetar a *Solução de adequação do sistema* e registrar as respostas de pico conforme indicado no *Procedimento*. A resolução entre a insulina lispro e insulina lispro desamido A-21 é, no mínimo, 2,5; e o fator de cauda para o pico de insulina lispro é, no máximo, 2,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de micro-organismos mesofílicos (5.5.3.1.2). No máximo 100 UFC/g, sendo o teste feito em, exatamente, cerca de 0,3 g da amostra.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 10 UE/mg, utilizar a técnica cromogênica descrita em *Técnicas fotométricas*.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 214 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (1,5 µm a 10 µm), mantida a temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Diluente: dissolver 28,4 g de sulfato de sódio anidro em 1000 mL de água, misturar e ajustar com ácido fosfórico para um pH de 2,3.

Fase móvel: misturar 745 mL de *Diluente* e 255 mL de acetonitrila. Fazer ajustes, se necessário, de acordo com *Adequabilidade do sistema* descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**.

Solução do sistema de adequação: dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, da insulina lispro em ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução com uma concentração de cerca de 1,0 mg/mL. Deixar em repouso à temperatura ambiente para obter uma solução contendo entre 0,8% e 11% de insulina lispro desamido A-21.

Preparação padrão: dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, da insulina lispro SQR em ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução com concentração de cerca de 0,7 mg/mL.

Preparação de ensaio: dissolver uma parcela, pesada com exatidão, da insulina lispro em ácido clorídrico 0,01 *M* para obter uma solução com concentração de cerca de 0,8 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, volumes iguais (cerca de 20 µL) da *Preparação padrão* e da *Preparação de ensaio*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos principais. Calcular a quantidade, na unidade de insulina lispro por miligrama, segundo a expressão:

$$\frac{CS}{CU} \times \left(\frac{rU}{rS} \right)$$

em que

CS = concentração, em unidades de insulina lispro por mL, da insulina lispro SQR na *Preparação padrão*;
CU = concentração, em mg/mL, da insulina lispro na *Preparação de ensaio*;
rU e rS = áreas sob os picos da insulina lispro obtidas a partir da *Preparação de ensaio* e *Preparação padrão*, respectivamente. A partir do valor obtido no teste de *Perda por dessecação*, calcular a quantidade em relação à base seca.

Ajustar a composição da *Fase móvel* para fornecer um tempo de retenção de cerca de 24 minutos para o pico principal de insulina lispro. Injetar em triplicata a *Solução de adequação do sistema* e registrar as respostas de pico conforme indicado no *Procedimento*. A resolução entre a insulina lispro e a insulina lispro desamido A-21 é, no mínimo, 3; o fator de cauda para o pico de insulina lispro é, no máximo, 1,5; e o desvio padrão relativo para replicar as injeções é, no máximo, 1,1%.

Bioidentidade

Proceder conforme descrito no teste *Bioidentidade* em *Doseamento* da monografia *Insulina*. Realizar a coleta de sangue conforme descrito a seguir. Cumpre o teste.

Amostras de sangue: (45 ± 5) minutos e duas horas e (30 ± 5) minutos após a injeção, coletar de cada coelho uma amostra adequada de sangue de uma veia marginal da orelha. O sangue também pode ser colhido de forma eficaz a partir da artéria central auricular.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e em refrigerador.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NADROPARINA CÁLCICA
Nadroparinum calcicum

A nadroparina cálcica é uma preparação de heparina de baixo peso molecular que contém o sal cálcio. Essa heparina, de baixo peso molecular, é obtida por meio da despolimerização com ácido nitroso da heparina da mucosa intestinal suína, seguida de fracionamento para eliminar seletivamente a maior parte das cadeias com peso molecular inferior a 2000 Da. A maioria das cadeias possui um ácido 2-O-sulfo-α-L-idopiranosurônico na extremidade não redutora e uma estrutura de 6-O-sulfo-2,5-anidro-D-manitol na extremidade redutora da sua cadeia.

A nadroparina cálcica deve estar em conformidade com a monografia *Heparina baixa peso molecular* com as modificações e exigências adicionais descritas a seguir.

A massa molecular média relativa deve variar de 3600 Da a 5000 Da, com um valor característico de cerca de 4300 Da. O grau de sulfatação deve estar em torno de dois sulfatos por unidade dissacarídica. A potência deve ser, no mínimo, 95 UI e, no máximo, 130 UI de atividade antifator Xa por miligrama, calculada com referência à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa para atividade antifator IIa deve ser de 2,5 a 4,0.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. Calcular a potência em relação à atividade antifator Xa por miligrama e à atividade antifator IIa.

B. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. O espectro obtido deve ser similar ao da nadroparina padrão.

C. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. Os seguintes requisitos se aplicam: a massa molecular média relativa deve variar entre 3600 Da e 5000 Da; a porcentagem de cadeias com peso molecular inferior a 2000 Da deve ser, no mínimo, 15%; a porcentagem de cadeias com peso molecular entre 2000 Da e 8000 Da varia entre 75% e 95%; a porcentagem de cadeias com peso molecular entre 2000 Da e 4000 Da varia entre 35% e 55%.

ENSAIOS DE PUREZA

Álcool etílico. No máximo 1% (m/m). Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás em espaço confinado (headspace)* **(5.2.17.5.1)**, utilizando 2-propanol SR como padrão interno. Utilizar cromatógrafo a gás provido de detector de ionização de chamas, utilizando coluna de níquel com 1,5 m de comprimento e 2 mm de diâmetro interno empacotada com copolímero etilvinilbenzeno e divinilbenzeno com espessura de filme de 150 µm a 180 µm; temperatura da coluna de 150 °C e temperatura da porta de injeção e do detector a 250 °C; utilizar gás hélio ou nitrogênio como gás de arraste; fluxo de 30 mL/minuto.

Solução de padrão interno: diluir 1 mL de 2-propanol SR em 100 mL de água purificada. Diluir 1 mL dessa solução em 50 mL de água purificada.

Solução de referência: diluir 1 mL de álcool etílico SR em 100 mL de água purificada. Diluir 0,5 mL dessa solução em 20 mL de água purificada.

Frascos de enchimento: colocar as soluções descritas a seguir em quatro frascos separados compatíveis com o sistema de injeção.

Frasco branco: 1 mL de água purificada.

Frasco referência: 0,5 mL da *Solução de referência* e 0,5 mL da *Solução de padrão interno*.

Frasco de teste A: a 10 mg da amostra adicionar 1 mL de água purificada.

Frasco de teste B: a 10 mg da amostra adicionar 0,5 mL de água purificada e 0,5 mL da *Solução de padrão interno*.

Procedimento: equilibrar cada frasco no sistema *headspace* a 90 °C durante 15 minutos. O tempo de pressurização da pré-injeção é de um minuto. O cromatograma obtido a partir do *Frasco referência* apresenta dois picos que correspondem ao álcool etílico e ao 2-propanol no sentido em que o tempo de retenção aumenta (com tempos de retenção de aproximadamente dois minutos e meio e quatro minutos). Calcular o teor de álcool etílico (m/m) levando em consideração sua densidade a 20 °C, que deve ser de 0,792 g/mL.

Grupos N-NO. No máximo 0,25 ppm, determinado por clivagem da ligação N-NO, com ácido bromídrico em acetato de etila sob um condensador de refluxo e posterior detecção do NO (óxido nítrico) liberado por quimioluminescência. Utilizar o aparelho ilustrado na **Figura 1**.

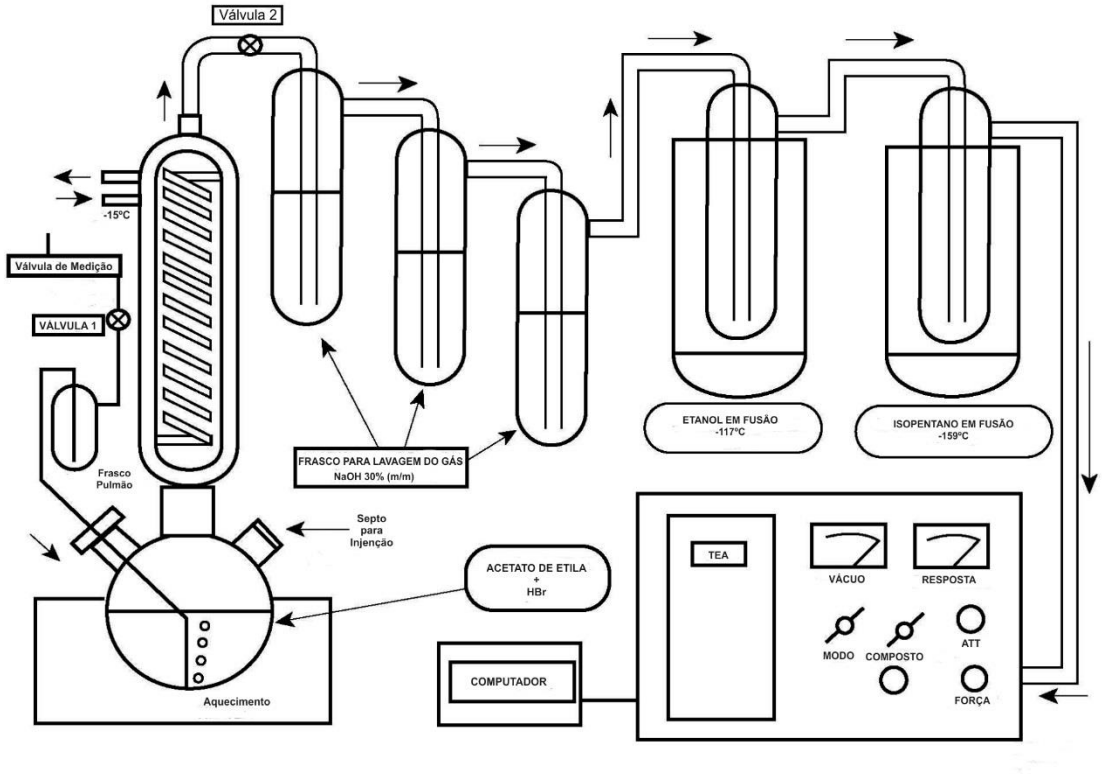


Figura 1 – Esquema do aparelho a ser utilizado na determinação de N-NO.

Descrição do aparelho (**Figura 1**). Utilizar um balão de vidro borossilicato, de fundo redondo, de 500 mL, com três juntas, acima do qual está ligado um condensador que é equipado com:
- de um lado, uma junta torion através da qual pode ser introduzida uma corrente de argônio, por uma cânula;
- do outro lado, um conjunto de parafuso com um pistão equipado com um septo através do qual a *Solução de referência* e uma *Solução amostra* serão injetadas.

O balão de fundo redondo é ligado em série a três armadilhas de bolhas que são eles próprios ligados a duas armadilhas frias, que são por sua vez ligadas a um detector de quimioluminescência. Tubulação adequada garante que as junções são estanques.

Preparação do detector de quimioluminescência: ligar o detector de quimioluminescência 48 horas antes da utilização e ligar a bomba de vácuo. O vácuo deve ser inferior a 0,5 mmHg. Uma hora antes da utilização, abrir a válvula de oxigênio a uma pressão de 0,2 MPa e uma velocidade de fluxo de 9,4 mL/minuto.

Preparação do borbulhador: em cada borbulhador, colocar 30 mL de uma solução de 300 g/L de hidróxido de sódio SR em água purificada.

- Armadilha em -120 °C: lentamente, adicionar nitrogênio líquido em um balão isotérmico contendo 250 mL de álcool etílico, utilizado uma espátula de madeira para manter a agitação até que uma pasta seja obtida. Colocar a armadilha fria no balão isotérmico preparado como descrito.

- Armadilha em -160 °C: lentamente, adicionar nitrogênio líquido para um balão isotérmico contendo 250 mL de 2-metilbutano utilizando uma espátula de madeira para manter a agitação até que uma pasta seja obtida. Colocar a armadilha fria no balão isotérmico preparado como descrito.

Secagem em balão de vidro de 500 mL borossilicato de fundo redondo e condensador: ferver 50 mL de acetato de etila sob refluxo durante uma hora sob atmosfera de argônio sem ligar o sistema detector de quimioluminescência.

Solução amostra: secar a substância a ser examinada durante 12 horas em pentóxido de difósforo a 60 °C sob vácuo. Dissolver 0,10 g da substância tratada de modo a ser examinada em 1 mL de formamida. Agitar a solução obtida durante 30 minutos.

Solução de referência: diluir 0,1 mL de solução nitrosodipropilamina em 6 mL de álcool etílico. Diluir 0,1 mL da solução obtida em 1,0 mL de formamida (esta solução é equivalente a 0,05 ppm de grupos N-NO).

Introduzir 50 mL de acetato de etila em balão de vidro borossilicato de 500 mL de fundo redondo seco e equipado com um septo. Ligar o balão de fundo redondo para o condensador, que foi previamente resfriado a -15 °C durante duas horas.

Ligar a cânula de argônio e ajustar a taxa de fluxo para 0,1 litro/minuto. Verificar se o sistema é livre de vazamentos. Apenas o conector para o detector de quimioluminescência permanece aberto, a fim de evitar excesso de pressão. Aquecer o acetato de etila até à ebulição.

Evacuar o sistema rodando lentamente a válvula do detector de quimioluminescência. Ao mesmo tempo, apertar a entrada do detector de quimioluminescência. Quando o sistema é equilibrado, o vácuo atinge 4 mmHg. O sinal do ajuste zero no detector de quimiluminescência é definido como 10% da escala completa do gravador. Através do septo do balão de vidro borossilicato de 500 mL de fundo redondo, injetar sequencialmente 0,5 mL de água purificada, 2 mL de ácido bromídrico diluído

e, em seguida, 2 mL de uma outra amostra de ácido bromídrico diluído, certificando-se que a caneta do gravador tenha voltado à linha de base entre cada injeção. Injetar 50 µL da *Solução de referência* e, em seguida, 50 µL da *Solução amostra* após a caneta do gravador voltar à linha de base. Calcular a concentração dos grupos N-NO da substância a ser examinada.

Sulfatos livres. No máximo 0,5% (m/v). Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**, utilizando um instrumento equipado a um detector de condutividade. Utilizar um detector com uma sensibilidade de 30 µS. Utilizar coluna de separação aniônica com 50 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno; utilizar como sistema de neutralização química uma micromembrana de neutralização de acordo com a fase móvel para a detecção de ânion.

Solução amostra: dissolver 30 mg da amostra em água purificada e diluir até 10 mL utilizando o mesmo solvente.

Solução de referência: dissolver 1,4787 g de sulfato de sódio anidro em água e diluir até 1000 mL utilizando o mesmo solvente. Diluir 1 mL desta solução para 200 mL com água destilada (5 ppm de íons sulfato).

Procedimento: eluir com uma solução de 1,91 g de tetraborato dissódico em 1000 mL de água purificada como fase móvel durante 15 minutos, mudar para 100% de hidróxido de sódio 0,1 *M* durante um período de meio minuto; eluir com essa solução durante 10 minutos; voltar às condições iniciais por um período de meio minuto; a taxa de fluxo é 1 mL/minuto.

Bombear continuamente o sistema de neutralização química em contrafluxo com uma solução de ácido sulfúrico a 2,45 g/L, a uma taxa de fluxo de 4 mL/minuto. Injetar 50 µL de cada solução. O cromatograma obtido com a solução de referência apresenta um pico principal que corresponde ao íon sulfato (tempo de retenção de aproximadamente 7,5 minutos). Alterar a composição da fase móvel, se necessário, para obter o tempo de retenção fixo. Calcular o teor de sulfato da substância a ser examinada.

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE)
Immunoserum bothropicum

O soro antibotrópico (pentavalente) é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com antígeno do gênero *Bothrops*, composto por venenos das serpentes *Bothrops jararaca; Bothrops jararacussu; Bothrops moojeni; Bothrops alternatus* e *Bothrops neuwiedi*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém em cada mililitro imunoglobulinas suficientes para neutralizar 5 mg do veneno de referência de *B. jararaca*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *B. jararaca*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária

- Dose Efetiva 50% (DE_{50}) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *B. jararaca*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL_{50}).

Determinação da DL_{50} do veneno: reconstituir a preparação liofilizada de veneno para determinada concentração peso por volume, com solução fisiológica 0,85% (p/v). Efetuar diluições em progressão geométrica com o mesmo diluente, utilizando fator de diluição constante, não superior a 1,5, e igualando os volumes finais. Inocular, por via intraperitoneal, um volume de 0,5 mL por camundongo

de cada diluição em grupos de, no mínimo, 10 camundongos albinos suíços de 18 g a 22 g. Observar os animais até 48 horas após a inoculação e registrar o número de mortos em cada diluição. Calcular a DL_{50} utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta (porcentagem de mortes) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem os seus limites. Expressar o resultado em microgramas de veneno por 0,5 mL.

Determinação da potência do soro: efetuar diluições progressivas da amostra em solução fisiológica 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição constante, não superior a 1,5, de maneira que o volume final após a mistura com a dose desafio de veneno seja idêntico em todos os tubos de ensaio. Reconstituir e diluir o *Veneno de referência* com solução fisiológica 0,85% (p/v) e adicionar em cada tubo volume constante, de modo que cada dose a ser inoculada por animal contenha 5 DL_{50}. Homogeneizar e incubar a mistura a 37 °C por 60 minutos. Inocular, por via intraperitoneal, um volume de 0,5 mL por camundongo de cada mistura em grupos de, no mínimo, oito camundongos albinos suíços de 18 a 22 g. Observar os animais até 48 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada mistura da amostra em teste. Calcular a Dose Efetiva 50% (DE_{50}) em microlitros, utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem os seus limites. Calcular a potência em miligramas por mililitro da amostra, segundo a expressão:

$$Potência\left(\frac{mg}{mL}\right) = \frac{\mathrm{Tv} - 1}{DE_{50}} \times DL_{50} \text{ do veneno}$$

em que

T_v = número de DL_{50} utilizadas por camundongo na dose teste do veneno.

No mínimo 5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTILAQUÉTICO
Immunoserum bothropicum-laqueticum

O soro antibotrópico (pentavalente) e laquético é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com venenos de *Bothrops jararaca; Bothrops jararacussu; Bothrops moojeni; Bothrops alternatus; Bothrops neuwiedi* e *Lachesis muta*. Cumpre com as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém em cada mililitro imunoglobulinas suficientes para neutralizar 5 mg e 3 mg dos venenos de referência de *B. jararaca* e *L. muta*, respectivamente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígenos venenos de *B. jararaca* e *L. muta*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Fração botrópica

Determinar a potência conforme descrito na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*. No mínimo 5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Fração laquética

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *L. muta*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 ºC. O veneno é padronizado considerando a determinação da Dose Letal 50% (DL_{50}).

Determinação da DL_{50} do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL_{50} do veneno* na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*.

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*.

No mínimo 3 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTICROTÁLICO
Immunoserum bothropicum-crotalicum

soro antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico; 09974

O soro antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com venenos de *Bothrops jararaca*, *Bothrops jararacussu*, *Bothrops moojeni*, *Bothrops alternatus*, *Bothrops neuwiedi* e *Crotalus durissus*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 5 mg e 1,5 mg de venenos de referência de *B. jararaca* e *C. durissus terrificus*, respectivamente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígenos venenos de *B. jararaca* e *C. durissus terrificus*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Fração botrópica

Determinar a potência, conforme descrito em *Doseamento* da monografia *Soro antibotrópico (pentavalente)*.

Fração crotálica

Determinar a potência conforme descrito em *Doseamento* da monografia *Soro anticrotálico*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE), ANTICROTÁLICO E ANTILAQUÉTICO

Immunoserum bothropicum-laqueticumcrotalicum

soro antibotrópico (pentavalente), anticrotálico e antilaquético; 09976

O soro antibotrópico (pentavalente), anticrotálico e antilaquético é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com venenos de *Bothrops jararaca*, *Bothrops jararacussu*, *Bothrops moojeni*, *Bothrops alternatus*, *Bothrops neuwiedi*, *Lachesis muta* e *Crotalus durissus*. Cumpre com as especificações e controles prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar, no mínimo, 5 mg, 3 mg e 1,5 mg de venenos de referência de *B. jararaca*, *L. muta* e *C. durissus terrificus*, respectivamente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígenos venenos de *B. jararaca*, *L. muta* e *C. durissus terrificus.*

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Cumpre as *Características* descritas na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Cumpre os *Ensaios físico-químicos* descritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Cumpre os *Testes de segurança biológica* descritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Fração botrópica

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente).*

Fração crotálica

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Soro anticrotálico.*

Fração laquética

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente) e antilaquético.*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIBOTULÍNICO (TRIVALENTE)
Immunoserum botulinicum

O soro antibotulínico (trivalente) é uma solução que contém imunoglobulinas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra toxinas tipo A, tipo B e tipo E produzidas pelo *Clostridium botulinum*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, no mínimo, 375 UI, 275 UI e 425 UI de antitoxina para cada um dos tipos A, B e E, respectivamente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígenos as toxinas tipos A, B e E produzidas pelo *C. botulinum*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger os animais utilizados na prova contra os efeitos letais de uma dose teste de cada um dos tipos de toxinas de referência. A dose do soro em teste é comparada com a dose da *Antitoxina botulínica de referência* necessária para conferir a mesma proteção.

Antitoxinas botulínicas de referência: os padrões internacionais de referência das antitoxinas dos tipos A, B ou E são distribuídos aos laboratórios de produção e controle em ampolas que contêm soro equino hiperimune liofilizado, que especificamente neutraliza a toxina botulínica do tipo a que se refere. A equivalência do padrão internacional em unidades internacionais é estabelecida periodicamente pela Organização Mundial da Saúde.

Determinação da dose teste de toxina (L+/10): proceder conforme descrito em *Determinação da dose teste de toxina (L+/10)* da monografia de *Soro antitetânico* ou extrapolando os valores para *L+* ou

L+/100. As misturas (toxina+antitoxina) são incubadas à temperatura ambiente ou entre 20 °C e 24 ºC por 60 minutos.

Determinação da potência do soro: diluir a toxina referência para uma dose de L+/10, com solução de gelatina fosfatada (0,2% de gelatina dissolvida em tampão fosfato de sódio dibásico 0,05 *M*, pH 6,5 e autoclavada a 120 ºC durante 15 minutos). A uma série de tubos de ensaio, distribuir um volume constante de toxina botulínica diluída. Adicionar volumes variáveis da amostra. Igualar os volumes para 5 mL com o mesmo diluente. Homogeneizar e incubar à temperatura ambiente ou entre 20 °C e 24 ºC por 60 minutos. Inocular em cada camundongo albino suíço ou NIH de 18 a 22 g, por via intraperitoneal, um volume de 0,5 mL em grupos de, no mínimo, oito camundongos por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos. Nas mesmas condições descritas e paralelamente, realizar a prova com a *Antitoxina botulínica de referência*, com o objetivo de verificar-se a validade da prova e estabelecer correlação no cálculo do título. Determinar as doses efetivas 50% (DE_{50}) da amostra e da *Antitoxina botulínica de referência*, utilizando um método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa de resposta produzida (DE_{50}) esteja entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que deve apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança (P = 0,95) devem estar entre 50% e 200% da potência calculada. Calcular a potência do soro em teste, segundo a expressão:

$$Potência\ \left(\frac{UI}{mL}\right) = \frac{DE_{50}\ da\ amostra\ testada}{DE_{50}\ da\ antitoxina\ de\ referência} \times \frac{UI}{mL} da\ antitoxina\ de\ referência$$

No mínimo 375 UI/mL, 275 UI/mL e 425 UI/mL de antitoxina para cada um dos tipos A, B e E, respectivamente. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTICROTÁLICO
Immunoserum crotalicum

O soro anticrotálico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com veneno de *Crotalus durissus*. Cumpre com as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 1,5 mg de veneno de referência de *C. durissus terrificus*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *C. durissus terrificus*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *C. durissus terrificus*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 ºC. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL_{50}).

Determinação da DL_{50} do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL_{50} do veneno* da monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente).*

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* da monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente).*

No mínimo 1,5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIDIFTÉRICO
Immunoserum diphthericum

O soro antidiftérico é uma solução que contém imunoglobulinas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra a toxina produzida pelo *Corynebacterium diphtheriae*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, no mínimo, 1000 UI de antitoxina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno a toxina do *C. diphtheriae*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger os animais utilizados na prova contra os efeitos letais de uma dose teste da *Toxina diftérica de referência*. A dose do soro em teste é comparada com a dose da *Antitoxina diftérica de referência* necessária para conferir a mesma proteção.

Antitoxina diftérica de referência: o padrão internacional de referência da antitoxina diftérica é distribuído aos laboratórios de produção e controle em ampolas que contêm soro equino hiperimune liofilizado, que especificamente neutraliza a toxina diftérica. O título nominal do padrão de referência secundário deve ser aferido, periodicamente, em unidades internacionais contra o padrão de referência internacional.

Toxina diftérica de referência: é preparada a partir de filtrados estéreis de sobrenadantes de cultivos líquidos de *C. diphtheriae*. O filtrado deve ser concentrado, purificado por métodos físicos ou químicos e liofilizado. Após a reconstituição da toxina, adicionar solução salina glicerinada e armazenar a -20 ºC.

Determinação da dose teste de toxina (L+): diluir a *Antitoxina diftérica de referência* para 5 UI/mL, com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Diluir a *Toxina diftérica de referência* para concentração conhecida, com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Em uma série de tubos de ensaio, adicionar volumes variáveis de toxina e volume constante da *Antitoxina diftérica de referência* diluída. Igualar os volumes com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Homogeneizar e incubar a 37 ºC por 60 minutos. Inocular em cada cobaia de 250 g a 350 g, por via subcutânea, com volume que contenha 1 UI de *Antitoxina diftérica de referência* em grupos de, no mínimo, quatro cobaias por mistura. Observar os animais até 96 horas e registrar o número de mortos em cada diluição. O L+ (limite morte) ou dose teste da toxina é a menor quantidade de toxina, que, quando combinada com 1 UI de *Antitoxina diftérica de referência*, provoca a morte dos animais no período de observação estipulado.

Determinação da potência do soro: diluir a *Toxina diftérica de referência* com solução fisiológica a 0,85% (p/v) para uma dose de 10 L+. Em uma série de tubos de ensaio, distribuir volumes variáveis da amostra. Adicionar 1 mL da *Toxina diftérica de referência* diluída. Igualar os volumes para 10 mL com o mesmo diluente. Homogeneizar e incubar as misturas a 37 ºC por 60 minutos. Inocular uma dose de 2 mL em cada uma das cobaias de 250 g a 350 g, por via subcutânea, em grupos de, no mínimo, quatro cobaias por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos. Nas mesmas condições descritas e paralelamente, realizar a prova com a *Antitoxina diftérica de referência*, com o objetivo de verificar a validade da prova e estabelecer correlação no cálculo do título. Determinar as doses efetivas 50% (DE_{50}) da amostra e da *Antitoxina diftérica de referência*, utilizando um método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa de resposta produzida (DE_{50}) esteja entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que deve apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança (P = 0,95) devem estar entre 50% e 200% da potência calculada. Calcular a potência do soro em teste, segundo a expressão:

$$Potência\ \left(\frac{UI}{mL}\right) = \frac{DE_{50}\ da\ amostra\ testada}{DE_{50}\ da\ antitoxina\ de\ referência} \times \frac{UI}{mL} da\ antitoxina\ de\ referência$$

No mínimo 1000 UI/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.
Alternativamente, pode ser utilizado um método in vitro, como ELISA ou teste em célula VERO, desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIELAPÍDICO (BIVALENTE)
Immunoserum elapidicum

O soro antielapídico (bivalente) é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com veneno de *Micrurus frontalis* e *Micrurus corallinus*. Cumpre as especificações e testes descritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 1,5 mg do veneno de referência de *M. frontalis*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *M. frontalis*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *Micrurus frontalis*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 ºC. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL_{50}).

Determinação da DL_{50} do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL_{50} do veneno* da monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*.

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* da monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*.

No mínimo 1,5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIESCORPIÔNICO
Immunoserum escorpionicum

O soro antiescorpiônico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com antígeno do gênero *Tityus serrulatus*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 1,0 mg do veneno de referência de *Tityus serrulatus*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *T. serrulatus.*

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *Tityus serrulatus*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 ºC. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL_{50}).

Determinação da DL_{50} do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL_{50} do veneno* da monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente).*

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* da monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente).*

No mínimo 1,0 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTILONÔMICO
Immunoserum lonomicum

O soro antilonômico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com extrato de *Lonomia obliqua*. Cumpre as especificações e controles prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 0,35 mg de veneno de referência de *L. obliqua*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno do extrato das cerdas de *Lonomia obliqua*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano.*

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger os animais suscetíveis contra a incoagulabilidade sanguínea provocada por uma dose fixa do veneno de *L. obliqua*.

Veneno de referência: veneno extraído de *L. obliqua* por maceração das cerdas com solução salina tamponada. Após a centrifugação do extrato, o sobrenadante contendo o veneno é distribuído em frascos e deve ser mantido a -20 ºC. O veneno é padronizado pela determinação da Dose de Incoagulabilidade 50% (DI_{50}).

Determinação da DI_{50} do veneno: efetuar diluições do *Veneno de referência* com solução fisiológica a 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição constante de 1:1 a 1:5, e igualando os volumes finais com o mesmo diluente. Inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL por camundongo, de cada diluição, em grupos de, no mínimo, seis camundongos BALB/c, machos, de 18 g a 22 g. Observar os animais por duas horas após a inoculação e coletar, com o auxílio de pipeta Pasteur, aproximadamente, 300 μL

de sangue por punção do plexo retro-orbital. Transferir para tubo de ensaio e determinar o tempo de coagulação por observação visual. O tempo máximo de coagulação é de dois minutos. As amostras de sangue que não formam coágulo no intervalo de tempo estipulado são consideradas como incoaguláveis. Registrar o número de animais com ausência de coagulação sanguínea e o total de animais sangrados. Calcular a DI_{50} utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta (porcentagem de incoaguláveis) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste, formando a curva de regressão em que deve existir relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio**,** quanto menores forem os seus limites. Expressar o resultado em microgramas de veneno por 0,5 mL.

Determinação da potência do soro: efetuar diluições progressivas da amostra em solução fisiológica a 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição constante de 1:1 a 1:5, de maneira que o volume final após a mistura com a dose desafio de 3 DI_{50} do *Veneno de referência* seja idêntico em todos os tubos de ensaio. Homogeneizar e incubar a mistura a 37 ºC por 60 minutos. Inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL por camundongo, de cada mistura, em grupos de pelo menos seis camundongos BALB/c, machos, de 18 g a 22 g. Observar os animais até duas horas após a inoculação e, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, coletar aproximadamente 300 μL de sangue por punção do complexo retro-orbital. Transferir para tubo de ensaio e determinar o tempo de coagulação por observação visual. As amostras de sangue que formam coágulo no intervalo de até dois minutos são consideradas como coaguláveis. Registrar o número de animais nos quais ocorre coagulação sanguínea e o total de animais sangrados. Calcular a Dose Efetiva 50% (DE_{50}) em microlitros, utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta (porcentagem de coaguláveis) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio**,** quanto menores forem seus limites. Calcular a potência, em miligramas por mililitro, segundo a expressão:

$$Potência\left(\frac{mg}{mL}\right) = \frac{Tv\ -1}{DE_{50}} \times DI_{50}\ do\ veneno$$

em que

T_v = número de DI_{50} utilizada por camundongo na dose teste do veneno.

O título da potência é expresso em miligramas de veneno neutralizados por mL da amostra. No mínimo 0,35 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTILOXOSCÉLICO (TRIVALENTE)
Immunoserum loxoscelicum

soro antiloxoscélico (trivalente); 09983

O soro antiloxoscélico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com antígeno do gênero *Loxosceles,* composto por venenos das aranhas *Loxosceles gaucho*, *Loxosceles intermedia* e *Loxosceles laeta*. Cumpre as especificações e controles prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Cada mililitro contém imunoglobulinas suficientes para neutralizar 15 doses mínimas necrosantes (DMN) de veneno de referência de *L. intermedia*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *L. intermedia.*

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Cumpre as *Características* descritas na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Cumpre os *Ensaios físico-químicos* descritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Cumpre os *Testes de segurança biológica* descritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger animais suscetíveis contra os efeitos dermonecróticos de uma Dose Mínima Necrosante (DMN) do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: veneno extraído de *L. intermedia*, o qual deve ser liofilizado ou cristalizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da DMN, que é a menor quantidade de veneno capaz de provocar, em até 72 horas, uma necrose de aproximadamente um centímetro de diâmetro, por injeção intradérmica na face interna da orelha de coelho.

Determinação da DMN de veneno: reconstituir a preparação liofilizada ou cristalizada de veneno para determinada concentração (p/v) com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Efetuar diluições em

progressão geométrica com o mesmo diluente, iniciando com uma dose de 3 mg de veneno e utilizando fator de diluição constante, não superior a 1,5.

Inocular, em dois coelhos albinos de 1,8 kg a 2,3 kg, por via intradérmica, um volume de 0,1 mL de cada diluição na face interna das duas orelhas de cada coelho. Observar os animais até 72 horas após a inoculação, registrar o aparecimento de dermonecrose e medir as lesões. A DMN é calculada segundo a expressão:

$$DMN = \frac{A + B}{2}$$

em que

DMN = dose mínima necrótica (cm);
A = média entre os diâmetros máximos nos quatro pontos inoculados;
B = média entre os diâmetros mínimos nos quatro pontos inoculados.

O resultado é expresso pela menor quantidade, em mg, de veneno, capaz de provocar uma lesão dermonecrótica de aproximadamente 1 cm de diâmetro.

Determinação da potência do soro: efetuar diluições da amostra em solução fisiológica a 0,85% (p/v), de forma a determinar a maior diluição que neutraliza 1 DMN do *Veneno de referência*, utilizando um fator de diluição constante, não superior a 1,5. Reconstituir e diluir o *Veneno de referência* com solução fisiológica a 0,85% (p/v), de modo que cada dose de 0,1 mL a ser inoculada por animal contenha 1 DMN. Injetar, por via intradérmica, a dose de 0,1 mL dessa diluição do *Veneno de referência* na face interna de uma das orelhas de cada um de três coelhos. Em seguida, administrar 1 mL de soro diluído na veia marginal da orelha oposta àquela em que foi inoculado o veneno. Em paralelo, realizar um controle do veneno por meio da inoculação de 1 DMN por orelha em, no mínimo, mais um coelho. Observar os animais até 72 horas após a inoculação, quanto ao aparecimento de dermonecrose. Registrar a maior diluição do soro que não provoca necrose. O título da potência é expresso em DMN de veneno neutralizado, por mililitro do soro.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIRRÁBICO

soro antirrábico; 09984

O soro antirrábico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra o vírus da raiva. Na imunização dos animais são

utilizadas cepas de vírus fixo inativado ou não, replicadas em cultivo de células distintas daquelas utilizadas na preparação da vacina raiva (inativada) de uso humano. Cumpre as especificações e controles prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, no mínimo, 200 UI.

IDENTIFICAÇÃO

Os métodos de *Doseamento* podem ser utilizados.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Método de soroneutralização em camundongos.

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger camundongos contra os efeitos letais de uma dose desafio de vírus rábico. Para avaliação comparativa da potência da amostra, utiliza-se soro equino liofilizado de referência, aferido em unidades internacionais, pelo soro padrão internacional distribuído pela Organização Mundial da Saúde.

Vírus desafio: cepa CVS (challenge virus standard), de Dose Letal 50% (DL_{50}) conhecida.

Determinação da DL_{50}: efetuar diluições decimais seriais de vírus com solução de água destilada contendo 2% (v/v) de soro normal de origem animal ou 0,75% (p/v) de albumina bovina. Homogeneizar e inocular, por via intracerebral, um volume de 30 µL de cada diluição em grupos de, no mínimo, 10 camundongos albinos suíços de 10 g a 15 g. Observar os animais durante 14 dias. Calcular a DL_{50} por método estatisticamente comprovado, utilizando o número em cada grupo que morrer ou desenvolver sintomas de raiva, entre o 5° e 14° dias. A faixa de resposta produzida (porcentagem de mortes) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada, formando a curva de regressão, que deve apresentar uma relação linear.

Determinação da potência do soro: efetuar diluições seriais da amostra, com o mesmo diluente descrito na *Determinação da DL_{50}*, utilizando fator de diluição constante, não superior a 2, até que seja atingida diluição em que, supostamente, não haja neutralização. Transferir para tubos de ensaio um volume constante de cada uma das quatro últimas diluições. Preparar diluição do *Vírus desafio*, para que contenha 100 DL_{50} a 500 DL_{50} iniciais, utilizar o mesmo diluente. Adicionar em cada um dos quatro tubos, já contendo soro, o mesmo volume da diluição de desafio, de maneira que sejam obtidas diluições dobradas de vírus, que contenha 50 DL_{50} a 250 DL_{50} da amostra em teste. Homogeneizar as misturas. Proceder de maneira idêntica para o soro de referência. Paralelamente, para determinar o número real de DL_{50} utilizado como desafio, preparar quatro diluições decimais sucessivas com o mesmo diluente, a partir da diluição utilizada como desafio. Distribuir um volume constante de diluente em cada um de quatro tubos de ensaio e transferir para os mesmos, iniciando pela diluição desafio, o mesmo volume de cada uma das diluições seriadas de vírus. Homogeneizar, obtendo diluições dobradas do vírus desafio. Incubar as misturas de soros mais vírus e vírus mais diluente em banho-maria a (37 ± 0,5) °C, durante 90 minutos. Inocular, por via intracerebral, um volume de 30 µL de cada mistura, em grupos de, pelo menos, oito camundongos albinos suíços de 10 g a 15 g. Observar os animais de cada grupo durante 14 dias e registrar o número de animais que morreram ou apresentaram sintomas de raiva, no período de 5 a 14 dias após o desafio.

Calcular as Doses Efetivas 50% (DE_{50}) da amostra e do soro de referência, assim como a DL_{50} do vírus desafio, por método estatisticamente validado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão, que deve apresentar uma relação linear. A potência é determinada segundo a expressão:

$$Potência \left|\frac{UI}{mL}\right| = \frac{DE_{50} da\ amostra\ em\ teste\ \times\ conc.em\ \frac{UI}{mL} do\ soro\ de\ referência}{DE_{50} do\ soro\ de\ referência}$$

A potência estimada deve ser de, no mínimo, 200 UI/mL e os limites de confiança não devem estar abaixo de 25% ou acima de 400% da atividade determinada.

B. Método de soroneutralização de vírus rábico em células BHK_{21}.

Pré-diluir os soros de referência e amostra teste para a concentração aproximada de 1 UI/mL e fazer diluições em série na razão 2, usando meio Eagle-MEM com 2,5% de soro fetal bovino. Colocar 50 µL de cada uma dessas diluições em microplaca de poliestireno de 96 orifícios e adicionar o mesmo volume de uma diluição de vírus fixo CVS-11 em células BHK_{21}, de forma a obter de 30 a 300 doses formadoras de focos fluorescentes 50% (DFF_{50}) após a mistura com os soros. Na mesma placa fazer uma titulação do vírus CVS-11 com quatro diluições seriadas na base 10, sendo a primeira igual à diluição adicionada aos soros teste e de referência. Incubar a microplaca com as misturas de soro e vírus em estufa com 5% de CO_2 a 37 °C durante 90 minutos. Em seguida, adicionar a cada orifício 100 µL de uma suspensão contendo 3,7 x 104 células BHK_{21} em meio Eagle MEM com 2,5% de soro fetal bovino. Em dois orifícios colocar apenas o meio de cultura e as células para controle das mesmas. Incubar novamente a microplaca a 37 °C em estufa com 5% de CO_2 durante 22 horas. Lavar as células com solução salina tamponada com fosfatos pH 8,0 e fixá-las com acetona a 80% resfriada a -20 °C por 15 minutos. Adicionar uma imunoglobulina antinucleocapsídeo rábico conjugada com isotiocianato de fluoresceína e manter a 37 °C durante 30 minutos. Lavar as placas duas vezes em solução salina tamponada com fosfato pH 8,0. Observar oito campos em cada orifício da microplaca em microscópio de fluorescência invertido com aumento de 200 vezes. Considerar positivo o campo que contenha um ou mais focos fluorescentes.

Calcular as Doses Efetivas 50% (DE_{50}) da amostra e do soro de referência, assim como a DL_{50} do vírus desafio, por método estatisticamente validado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de focos fluorescentes) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão, que deve apresentar uma relação linear e a análise estatística deve demonstrar uma inclinação significativa das linhas dose/resposta e sem desvios significativos de linearidade e paralelismo. A potência é determinada segundo a expressão:

$$Potência \left|\frac{UI}{mL}\right| = \frac{DE_{50} da\ amostra\ em\ teste\ \times\ conc.em\ \frac{UI}{mL} do\ soro\ de\ referência}{DE_{50} do\ soro\ de\ referência}$$

A potência estimada deve ser de, no mínimo, 200 UI/mL e os limites de confiança não devem estar abaixo de 80% ou acima de 125% da atividade determinada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTITETÂNICO

Immuno serum tetanicum ad usum humanum

O soro antitetânico é uma solução que contém imunoglobulinas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra a toxina produzida pelo *Clostridium tetani*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém em cada mililitro, no mínimo, 1000 UI de antitoxina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno a toxina de *C. tetani*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger os animais utilizados na prova contra os efeitos letais de uma dose teste da *Toxina tetânica de referência*. A dose do soro em teste é comparada com a dose da *Antitoxina tetânica de referência* necessária para conferir a mesma proteção.

Antitoxina tetânica de referência: o padrão de referência da antitoxina tetânica é uma preparação de soro equino hiperimune liofilizado, que especificamente neutraliza a toxina tetânica. O título nominal do padrão de referência secundário deve ser aferido, periodicamente, em unidades internacionais contra o padrão de referência internacional.

Toxina tetânica de referência: é preparada a partir de filtrados estéreis de sobrenadantes de cultivos líquidos de *C. tetani* incubados durante cinco a sete dias. O filtrado deve ser concentrado, purificado por métodos físicos ou químicos e liofilizado. Após a reconstituição, adicionar solução salina glicerinada e armazenar a -20 ºC.

Determinação da dose teste de toxina (Lp/10): diluir a *Antitoxina tetânica de referência* para 1 UI/mL, com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Diluir a toxina para uma determinada concentração, em solução fisiológica contendo peptona a 1% (p/v). Em uma série de tubos de ensaio, adicionar volumes variáveis de toxina e um volume constante da antitoxina de referência diluída. Igualar os volumes com o mesmo diluente da toxina. Homogeneizar e incubar a 37 ºC por 60 minutos. Inocular em cada camundongo albino suíço de 17 g a 22 g, por via subcutânea, com volume que contenha 0,1 UI de *Antitoxina tetânica de referência* em grupos de, no mínimo, 10 camundongos por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de animais paralíticos por mistura. O *Lp/10* (limite paralisante por 10) ou dose teste da toxina é a menor quantidade de toxina que, quando combinada com 0,1 UI de *Antitoxina tetânica de referência*, provoca a paralisia dos animais no período de observação estipulado.

Determinação da potência do soro: diluir a *Toxina tetânica de referência* com solução fisiológica tamponada contendo peptona a 1% (p/v) para uma dose de 10 *Lp/10*. A uma série de tubos de ensaio, distribuir volumes variáveis da amostra. Adicionar 1 mL da *Toxina tetânica de referência* diluída e igualar os volumes para 2 mL com o mesmo diluente. Homogeneizar e incubar as misturas a 37 ºC por 60 minutos. Inocular em cada camundongo albino suíço de 17 g a 22 g, por via subcutânea, um volume de 0,2 mL em grupos de, no mínimo, 10 camundongos por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de animais paralíticos. Nas mesmas condições descritas e paralelamente, realizar a prova com a *Antitoxina tetânica de referência*, com o objetivo de verificar-se a validade da prova e estabelecer correlação no cálculo do título. Determinar as doses efetivas médias (DE_{50}) da amostra e da *Antitoxina tetânica de referência*, utilizando um método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa de resposta produzida (DE_{50}) esteja entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que deve apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança (P = 0,95) devem estar entre 50% e 200% da potência calculada. Calcular a potência do soro em teste, segundo a expressão:

$$Potência\ \left(\frac{UI}{mL}\right) = \frac{DE_{50}\ da\ amostra\ testada}{DE_{50}\ da\ antitoxina\ de\ referência} \times \frac{UI}{mL} da\ antitoxina\ de\ referência$$

No mínimo 1000 UI/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Alternativamente, pode ser utilizado um método in vitro, como ELISA ou ToBI (toxin-binding inhibition test), desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-A PARA USO HUMANO

Immunoserum adversus A

DEFINIÇÃO

São preparações líquidas, estéreis, de cor azul artificial, límpidas, sem a presença de partículas em suspensão, contendo aglutininas específicas para o grupo sanguíneo "A" ou "A,B" (incluindo os subgrupos A1, A2, A1B e A2B), obtidas do plasma ou soro humano ou de cultura de célula (hibridoma). Devem possuir conservante antimicrobiano. Quando apresentadas em forma liofilizada, após a sua reconstituição, devem possuir as mesmas caraterísticas físicas descritas para preparações líquidas. Não devem possuir contaminação por outros anticorpos reativos contra outros antígenos eritrocitários humanos, como o M^g, Wr^a e outros cuja frequência seja superior a 1% da população. Quando obtidas do fracionamento do plasma humano, esse deve apresentar altos títulos para esse anticorpo. Devem ser testadas com eritrócitos dos grupos "O" e "B" comprovando a sua não especificidade para esses grupos sanguíneos. Realizar teste de potência comparando o reagente com um soro de referência anti-A reconhecido, apresentando resultado equivalente ou superior quando testado numa mesma amostra de suspensão de hemácias do grupo sanguíneo A.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Inspecionar visualmente durante o armazenamento e imediatamente antes do uso. Se a cor ou a aparência física for anormal ou se houver qualquer indício ou suspeita de contaminação microbiana, a unidade é imprópria para uso.

DOSEAMENTO

Testes laboratoriais. Testes laboratoriais devidamente validados são realizados de modo a garantir os parâmetros de qualidade discriminados na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Parâmetros de qualidade para o soro reagente de tipagem sanguínea anti-A para uso humano.

Painel de hemácias	Intensidade de aglutinação (mínima)	Teste de avidez	Título
A_1	3+	Até 15 segundos	256
A_2	2+	Até 30 segundos	128
A_1B	3+	Até 30 segundos	128
A_2B	2+	Até 45 segundos	64

EMBALAGEM

Frasco contendo 10 mL do soro reagente de tipagem sanguínea anti-A para uso humano, acompanhado de conta-gotas. Cada gota equivale a aproximadamente 50 µL.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. O rótulo das embalagens deve ter o fundo branco com letras de cor azul. Deve constar na bula que o soro foi testado para os vírus da hepatite B, hepatite C e HIV, porém nenhuma metodologia conhecida oferece segurança para os produtos derivados do sangue humano e que os cuidados de biossegurança devem ser respeitados. Quando obtido do plasma/soro humano, deve satisfazer às exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento.* Além disso, o rótulo ou a bula devem conter, no mínimo, as seguintes recomendações:

- que a tipagem sanguínea deve ser realizada em tubo ou placa em U;

- que o prazo de validade depende da forma de apresentação do soro (forma líquida: até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC e até dois anos se conservado à temperatura ≤ -20 ºC; forma liofilizada: até cinco anos e, depois de reconstituído, até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC.

SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-A,B PARA USO HUMANO

Immunoserum adversus A,B

DEFINIÇÃO

São preparações líquidas, estéreis, incolores, límpidas, sem a presença de partículas em suspensão, capazes de aglutinar eritrócitos humanos do grupo sanguíneo "A", "B" ou "A,B" (incluindo os subgrupos "A_1B" e "A_2B"), obtidas do plasma ou soro humano ou de cultura de célula (hibridoma). Devem possuir conservante antimicrobiano. Quando apresentadas em forma liofilizada, após a sua reconstituição, devem possuir as mesmas características físicas descritas para preparações líquidas. Não devem possuir contaminação por outros anticorpos reativos contra outros antígenos eritrocitários humanos, como o M^g, Wr^a e outros cuja frequência seja superior a 1% da população. Quando obtidas do fracionamento do plasma humano, esse deve apresentar altos títulos para este anticorpo. Devem ser testadas com eritrócitos do grupo "O" comprovando a sua não especificidade para esse grupo sanguíneo. Realizar teste de potência comparando o reagente com um soro de referência anti-A,B reconhecido, apresentando resultado equivalente ou superior quando testado numa mesma amostra de suspensão de hemácias do grupo sanguíneo A,B.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Inspecionar visualmente durante o armazenamento e imediatamente antes do uso. Se a cor ou a aparência física for anormal ou se houver qualquer indício ou suspeita de contaminação microbiana, a unidade é imprópria para uso.

DOSEAMENTO

Testes laboratoriais. Testes laboratoriais devidamente validados são realizados de modo a garantir os parâmetros de qualidade discriminados na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Parâmetros de qualidade para soro reagente de tipagem sanguínea anti-A,B para uso humano.

Painel de hemácias	Intensidade de aglutinação (mínima)	Teste de avidez	Título
A_1	3+	Até 15 segundos	256
A_1B	3+	Até 15 segundos	256
B	3+	Até 15 segundos	256
A_2	3+	Até 30 segundos	128

EMBALAGEM

Frasco contendo 10 mL do soro reagente de tipagem sanguínea anti-A,B para uso humano, acompanhado de conta-gotas. Cada gota equivale a aproximadamente 50 µL.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. O rótulo das embalagens deve ter o fundo branco com letras de cor laranja. Deve constar na bula que o soro foi testado para os vírus da hepatite B, hepatite C e HIV, porém nenhum método conhecido oferece segurança para os produtos derivados do sangue humano e que os cuidados de biossegurança devem ser respeitados. Quando obtido do plasma/soro humano

deve satisfazer às exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*. Além disso, o rótulo ou a bula devem conter, no mínimo, as seguintes recomendações:

- que a tipagem sanguínea deve ser realizada em tubo ou placa em U;

- que o prazo de validade depende da forma de apresentação do soro (forma líquida: até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC e até dois anos se conservado à temperatura ≤ -20 ºC; forma liofilizada: até cinco anos e, depois de reconstituído, até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC.

SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-B PARA USO HUMANO

Immunoserum adversus B

DEFINIÇÃO

São preparações líquidas, estéreis, de cor amarelo artificial, límpidas, sem a presença de partículas em suspensão, capazes de aglutinar eritrócitos humanos do grupo sanguíneo "B" ou "A,B" (incluindo os subgrupos "A1B" e "A2B"), obtidas do plasma ou soro humano ou de cultura de célula (hibridoma). Devem possuir conservante antimicrobiano. Quando apresentadas em forma liofilizada, após a sua reconstituição, devem possuir as mesmas caraterísticas físicas descritas para preparações líquidas. Não devem possuir contaminação por outros anticorpos reativos contra outros antígenos eritrocitários humanos, como o M^g, Wr^a e outros cuja frequência seja superior a 1% da população. Quando obtidas do fracionamento do plasma humano, este deve apresentar altos títulos para este anticorpo. Devem ser testadas com eritrócitos dos grupos "A" e "O" comprovando a sua não especificidade para estes grupos sanguíneos. Realizar teste de potência comparando o reagente com um soro de referência anti-B reconhecido, apresentando resultado equivalente ou superior quando testado numa mesma amostra de suspensão de hemácias do grupo sanguíneo B.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Inspecionar visualmente durante o armazenamento e imediatamente antes do uso. Se a cor ou a aparência física for anormal ou se houver qualquer indício ou suspeita de contaminação microbiana, a unidade é imprópria para uso.

DOSEAMENTO

Testes laboratoriais. Testes laboratoriais devidamente validados são realizados de modo a garantir os parâmetros de qualidade discriminados na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Parâmetros de qualidade para o soro reagente de tipagem sanguínea anti-B para uso humano.

Painel de hemácias	Intensidade de aglutinação (mínima)	Teste de avidez	Título
B	3+	Até 15 segundos	256
A_1B	3+	Até 15 segundos	256

EMBALAGEM

Frasco contendo 10 mL do soro reagente de tipagem sanguínea anti-B para uso humano, acompanhado de conta-gotas. Cada gota equivale a aproximadamente 50 µL.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. O rótulo das embalagens deve ter o fundo branco com letras de cor amarela. Deve constar na bula que o soro foi testado para os vírus da hepatite B, hepatite C e HIV, porém nenhum método conhecido oferece segurança para os produtos derivados do sangue humano e que os cuidados de biossegurança devem ser respeitados. Quando obtido do plasma/soro humano deve satisfazer às exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*. Além disso, o rótulo ou a bula devem conter, no mínimo, as seguintes recomendações:

- que a tipagem sanguínea deve ser realizada em tubo ou placa em U;

- que o prazo de validade depende da forma de apresentação do soro (forma líquida: até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC e até dois anos se conservado à temperatura ≤ -20 ºC; forma liofilizada: até cinco anos e, depois de reconstituído, até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC.

SORO REAGENTE DE TIPAGEM SANGUÍNEA ANTI-RH (ANTI-D, ANTI-C, ANTI-E, ANTI-c, ANTI-e E ANTI-C^W) PARA USO HUMANO

Immunoserum adversus Rh

DEFINIÇÃO

São preparações líquidas, estéreis, incolores, límpidas, sem a presença de partículas em suspensão, aglutininas para antígenos do sistema ABO e aloanticorpos, obtidas do plasma ou soro humano ou a partir de cultura de célula (hibridoma). Devem possuir conservante antimicrobiano. Quando apresentadas em forma liofilizada, após a sua reconstituição, devem possuir as mesmas características físicas observadas nas preparações líquidas. Não devem ser adicionados corantes artificiais. Podem ser apresentadas na forma de imunoglobulina IgM em solução salina com baixa concentração proteica, na forma de IgG em solução com alta concentração proteica, na forma de misturas das imunoglobulinas IgG e IgM ou ainda a IgG modificada quimicamente.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Inspecionar visualmente durante o armazenamento e imediatamente antes do uso. Se a cor ou a aparência física for anormal ou se houver qualquer indício ou suspeita de contaminação microbiana, a unidade é imprópria para uso.

DOSEAMENTO

Testes laboratoriais. Testes laboratoriais devidamente validados são realizados de modo a garantir os parâmetros de qualidade relacionados na **Tabela 1** e na **Tabela 2**.

Os principais soros para tipagem do sistema Rh estão listados na **Tabela 1**, cada um reagindo com o(s) antígeno(s) designado(s) pela letra correspondente (terminologia de Fisher-Race) e a nomenclatura alternativa (Weiner).

Tabela 1 – Terminologia segundo Fisher-Race e Weiner.

Antissoro	Antígeno	
	Fisher-Race	Weiner
Anti-D	D	Rh_o
Anti-C	C	rh´
Anti-E	E	rh´´
Anti-CD	D e C	Rh_o e rh´
Anti-DE	D e E	Rh_o e rh´´
Anti-CDE	D, C e E	Rh_o , rh´ e rh´´
Anti-c	c	hr´
Anti-e	e	hr´´
Anti-C^w	C^w	rh'w

Cada soro deve atender aos requisitos do teste para potência. No caso de soros salinos, para teste em tubos de ensaio, são feitos em paralelo com o soro padrão de referência anti-D, anti-C ou anti-E, não podendo os resultados serem inferiores ao padrão. Não há padrão de referência para o anti-c e anti-e em meio salino, devendo o teste de reatividade utilizar suspensão de hemácias de 3% a 5% com fenótipos conforme a **Tabela 2**.

No caso de soros, para uso em placa ou em tubo para teste rápido, são feitos em paralelo com o soro padrão de referência anti-D, anti-C, anti-E, anti-c ou anti-e, não podendo os resultados serem

inferiores ao padrão, devendo o teste de reatividade utilizar suspensão de hemácias de 3% a 5% com fenótipos conforme a **Tabela 2**.

O teste de avidez para os soros reagentes, para uso em placa e tubo, atendem aos mesmos requisitos do teste de potência descrito nas monografias *Soro reagente de tipagem sanguínea anti-A para uso humano, Soro reagente de tipagem sanguínea anti-B para uso humano* e *Soro reagente de tipagem sanguínea anti-A,B para uso humano*.

Podem ser utilizadas hemácias do grupo A, B, AB ou O.

Tabela 2 - Relação entre anticorpos e fenótipos das células.

Soro	Fenótipo da célula
Anti-D	cDe
Anti-C	Ccde
Anti-E	cdEe
Anti-CD	cDe, Ccde
Anti-DE	cDe, cdEe
Anti-CDE	cdEe, cDe, Ccde
Anti-c	CcDEe
Anti-e	cdEe
Anti-C^W	rh^{w1}

O soro anti-D (anti-Rh(D) ou anti-Rho) deve apresentar reatividade de 3+, no mínimo com hemácias "O" R0r, "O" R1r e "O" R2r; avidez de até 30 segundos e no máximo título 32. O soro anti-D em meio salino deve apresentar reatividade de 1+, no mínimo com hemácias "O" R0r, "O" R1r e "O" R2r; no máximo, título 8.

O soro anti-D não pode reagir com hemácias Rh negativas (rr), em temperatura ambiente e a 37 °C ou no teste indireto da antiglobulina humana (teste de Coombs indireto), sem potencializador. O soro tem que detectar D fraco. O soro controle deve possuir nas mesmas concentrações as substâncias utilizadas, inclusive as proteínas e conservantes, e não deve apresentar reação de aglutinação com as hemácias "O" R0r, R1r, R2r.

Cada soro deve atender aos requisitos dos ensaios de especificidade para o método mais sensível, recomendado pelo fabricante, em que devem ser testados com pelo menos quatro fenótipos positivos e quatro fenótipos negativos conforme **Tabela 3**. Deve ser demonstrada a ausência de contaminação de anticorpos reativos para os antígenos M^g e Wr^a, assim como outros antígenos que possuem incidência de 1% ou mais na população em geral.

Tabela 3 – Relação dos fenótipos a serem testados.

Soro	Células
Anti-D	CcDe, cDe, Ccde, cdEe, A_1cde, B cde, O cde, o teste deve ser realizado pela técnica de antiglobulina indireta, utilizando-se células de três diferentes doadores
Anti-C	cDe, Ccde, cdEe, C + rh_i neg. células, A_1cde, B cde, O cde
Anti-E	cDe, Ccde, cdEe, A_1 cde, B cde, O cde
Anti-CD	cDe, Ccde, cdEe, A_1cde, B cde, O cde, e onde recomendado para a detecção do antígeno G, r^Gr
Anti-DE	cDe, Ccde, cdEe, A_1 cde, B cde, O cde
Anti-CDE	cDe, Ccde, cdEe, A_1 cde, B cde, O cde, e onde recomendado para a detecção do antígeno G, r^Gr

Anti-c	Ccde, A_1 CDe, B CDe, O CDe, e CDEe ou CDE ou CdE
Anti-e	cdEe, A_1 cDE, B cDE, O cDE, e CcDE ou CDE ou CdE
Anti-C^W	rh^{w1}, A_1 rh^{w1}, B rh^{w1} e O CDe, e CDEe

Todos os glóbulos vermelhos em suspensão usados para estes procedimentos devem ser validados e seus registros mantidos.

Antígenos com maior incidência na população brasileira são os seguintes: A,B ,H, Le^a, Le^b, I, K, k, Kp^a, Kp^B, Ic^C, P1, D, C ,E , c, e, C^w, M, N, S, s, U, Lu^a, Lu^b, Jk^A, Jk^b, Fy^a, Fy^b, Di^a e Di^B.

São também conhecidos Ga, Do^a, Do^b, Yt^a, Yt^B, Lan, Co^a, Co^b, M^g, Wr^a e Sd^a.

EMBALAGEM

Frasco contendo 10 mL do soro reagente de tipagem sanguínea para uso humano específico acompanhado de conta-gotas. Cada gota equivale a aproximadamente 50 µL.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo ou a bula devem conter, no mínimo, as seguintes recomendações:

- que a tipagem sanguínea deve ser realizada em tubo ou placa em U;
- que o prazo de validade depende da forma de apresentação do soro (forma líquida: até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC e até dois anos se conservado a temperatura ≤ -20 ºC; forma liofilizada: até cinco anos e, depois de reconstituído, até um ano se conservado entre 2 ºC e 6 ºC.

SOROS HIPERIMUNES PARA USO HUMANO
Immunosera adusum humanum

Os soros hiperimunes são preparações contendo imunoglobulinas purificadas, de origem animal, que neutralizam especificamente toxinas bacterianas, bactérias, vírus ou componentes tóxicos do veneno de uma ou mais espécies de animais peçonhentos. Um conservante adequado pode ser adicionado e o produto final é apresentado sob forma líquida ou liofilizada. O produto líquido é límpido, incolor ou ligeiramente amarelado, não apresentando grumos ou partículas. O soro liofilizado consiste de pó branco ou ligeiramente amarelado que, uma vez reconstituído, apresenta as mesmas características das preparações líquidas.

As imunoglobulinas purificadas são obtidas por tratamento enzimático e precipitação fracionada, ou por outros procedimentos químicos ou físicos, de plasmas de animais sadios imunizados com os antígenos específicos. Durante o processo de imunização, os animais não devem ser tratados com penicilina ou estreptomicina.

Para assegurar a qualidade do produto nas diversas fases de processamento devem ser realizados testes de esterilidade, pH, proteínas, atividade ou potência, por métodos *in vitro* ou *in vivo*.

Antes do envase, amostras do produto são submetidas às determinações que se seguem.

Cloreto de sódio. 0,70% (p/v) a 0,90% (p/v).

Fenol. No máximo 0,35% (p/v).

Nitrogênio e proteínas. No máximo 0,30% (p/v) de nitrogênio não proteico. No máximo 15% (p/v) de proteínas.

Potência. É determinada de acordo com os procedimentos indicados nas monografias respectivas.

Sólidos totais. No máximo 20%.

Sulfato de amônio. No máximo 0,20% (p/v). A preparação é distribuída assepticamente em ampolas ou frascos-ampola. A liofilização do produto, quando requerida, deve assegurar concentração de água não superior a 3% do produto final.

IDENTIFICAÇÃO

A. Baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão duplo radial* (*Ouchterlony*). Preparar gel de ágar a 1% (p/v) e distribuir em lâmina para microscópio, de modo que resulte em camada fina. Colocar em estufa a 37 °C, sem secar. Adicionar 4 mL de ágar na lâmina e colocar à temperatura de 2 °C a 8 °C em câmara úmida por uma hora. Fazer orifícios no gel, mantendo a mesma distância entre o orifício central e os periféricos. Preencher o orifício central com solução do antígeno específico e os periféricos com a amostra a testar, em diluições variáveis. Preencher um dos orifícios com soro normal equino, para controle negativo. Incubar a 37 °C por 24 horas em câmara úmida e realizar a leitura em lâmpada para contraste. Observar a presença de linha de precipitação, reação de identidade entre os componentes analisados.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,0 a 7,0.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Cloreto de sódio. Em erlenmeyer de 50 mL, adicionar 10 mL da amostra diluída a 10% (v/v) em água bidestilada. Adicionar, com agitação, três gotas de difenilcarbazona-azul de bromofenol SR e, posteriormente, algumas gotas de ácido nítrico 0,20 *M* SV, até que a solução fique amarelo-esverdeada. Efetuar ensaio em branco. Titular com nitrato de mercúrio (II) 0,01 *M* SV, até o ponto de viragem, em que uma coloração violeta indica o ponto final. Cada mL de nitrato de mercúrio (II) 0,01 *M* SV equivale a 0,585 mg de cloreto de sódio. É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase. Entre 0,70% (p/v) e 0,90% (p/v).

Fenol. No máximo 0,35% (p/v).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Diluir a amostra, de modo que a concentração de fenol esteja entre 5 ppm e 30 ppm. Adicionar 5 mL de tampão borato pH 9,0, 5 mL de 4-aminoantipirina a 0,10% (p/v) e 5 mL de ferricianeto de potássio a 5% (p/v). Em paralelo, preparar branco e uma curva de calibração de fenol com concentrações variando de 5 ppm a 30 ppm. Proceder às leituras das absorvâncias **(5.2.14)** da amostra, dos padrões e do branco a um comprimento de onda de 546 nm, 10 minutos após o término da reação. Utilizar a leitura dos padrões para fazer a curva analítica e determinar a concentração de fenol na amostra por interpolação gráfica ou regressão linear. É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

B. Adicionar 1 mL da amostra em um balão volumétrico e completar o volume para 200 mL com água destilada. Dessa solução, tomar 5 mL e transferir para um balão volumétrico de 25 mL. Adicionar 3 mL de tampão borato pH 9,0, 2,5 mL 4-aminoantipirina a 0,15% (p/v) e 0,5 mL de ferricianeto de potássio a 5% (p/v). Agitar e completar o volume com água destilada. Em paralelo, preparar o branco e uma curva de calibração de fenol com concentrações variando de 0,6 μg a 3,9 μg de fenol por mililitro. Proceder às leituras das absorvâncias **(5.2.14)** da amostra, dos padrões e do branco, em comprimento de onda de 495 nm, de 20 a 40 minutos após o término da reação. Utilizar a leitura dos padrões para fazer a curva analítica e determinar a concentração de fenol na amostra, por interpolação gráfica ou regressão linear.

Nitrogênio proteico e proteínas. Proceder conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. No máximo 0,3% (p/v) de nitrogênio não proteico e 15% (p/v) de proteínas. Para determinar a concentração de proteínas, multiplicar o resultado de nitrogênio proteico por 6,25. É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Sólidos totais. Em pesa-filtro previamente tarado, pesar com exatidão 1 g da amostra, em duplicata, e colocar na capela de exaustão sobre placa de aquecimento, até a evaporação do líquido. Transferir o pesa-filtro com a amostra para estufa a 105 °C e deixar por uma hora. Transferir a amostra dessecada para dessecador, deixar por 30 minutos e pesar. Repetir o procedimento de dessecação até peso constante. Calcular a porcentagem de sólidos totais segundo a expressão:

$$\%\ de\ sólidos\ totais = B \times 100\ C$$

em que

B = diferença entre o pesa-filtro dessecado e o pesa-filtro vazio;
C = peso da amostra.

É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase. No máximo 20%.

Sulfato de amônio. Diluir a amostra a 1% (v/v) com água purificada e transferir 10 mL da solução para tubo de Nessler. Transferir 1 mL de solução estoque de sulfato de amônio a 0,6% (p/v) para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água purificada. Diluir a solução em proporções 1:2, 1:3, 1:4 e transferir 10 mL de cada diluição para três tubos de Nessler. Adicionar 1 mL de reagente de Nessler a cada um dos tubos contendo a amostra e os padrões e comparar a cor. A intensidade da cor da amostra é igual ou menor que a da solução padrão diluída a 1:3. É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase. No máximo 0,2% (p/v).

Umidade residual. É determinada quando o produto é apresentado sob a forma liofilizada. Transferir 80 mg da amostra para um pesa-filtro previamente dessecado e tarado. Manter por três horas em atmosfera de pentóxido de fósforo anidro, sob pressão não superior a 5 mm de mercúrio, à temperatura de 60 °C. O pesa-filtro contendo a amostra é resfriado por 20 minutos em dessecador contendo sílica-gel e pesado imediatamente. A etapa de aquecimento e resfriamento é repetida até a obtenção de peso constante. O valor da umidade residual é a média do porcentual de perda de peso de três avaliações da amostra, no mínimo. O método volumétrico para determinação de água **(5.2.20.1)** também pode ser utilizado. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar somente o método de filtração por membrana, que deve ter porosidade nominal máxima de 0,45 μm.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar 1 mL/kg e não reutilizar os animais utilizados no teste.

DOSEAMENTO

Para a determinação da potência, proceder conforme descrito na monografia específica. É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

A temperatura e o prazo de validade são os indicados pelo fabricante do soro, tendo como base evidências experimentais, aprovadas pela autoridade de controle regulatório nacional.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

TINZAPARINA SÓDICA
Tinzaparinum natricum

A tinzaparina sódica é um sal sódico de heparina de baixo peso molecular obtida por despolimerização enzimática controlada da heparina de mucosa intestinal suína, utilizando-se a heparinase de *Flavobacterium heparinum*. A maioria dos componentes possuem uma estrutura do ácido 2-O-sulfo-4-enepiranosuronico na região da extremidade não redutora e uma 2N,6-O-disulfo-D-glucosamina na região da extremidade redutora da cadeia.

A tinzaparina sódica deve estar em conformidade com a monografia *Heparina de baixo peso molecular* com as modificações e exigências adicionais descritas a seguir.

A massa molecular média relativa varia de 5500 Da a 7500 Da, com um valor característico próximo de 6500 Da. O grau de sulfatação é de 1,8 a 2,5 por unidade dissacarídica. A potência não deve ser inferior a 70 UI nem superior a 120 UI de atividade antifator Xa por miligrama, calculado em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela a atividade antifator IIa é entre 1,5 e 2,5.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*, utilizar tinzaparina sódica padrão.

B. Proceder conforme descrito no teste **B.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. O espectro obtido deve ser similar ao da tinzaparina padrão.

C. Proceder conforme descrito no teste **C.** de *Identificação* da monografia *Heparina de baixo peso molecular*. Os seguintes requisitos se aplicam: a massa molecular média relativa varia de 5500 Da a 7500 Da; a porcentagem em massa das cadeias inferiores a 2000 Da é, no máximo, 10%; a porcentagem de cadeias com peso molecular entre 2000 Da e 8000 Da pode variar, no máximo, entre 60% e 72%; a porcentagem de cadeias com peso molecular acima de 8000 Da pode variar de 22% a 36%.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de água. A preparação é límpida **(5.2.25)**.

ENSAIOS DE PUREZA

Absorvância específica. 8,0 a 12,5 em relação à substância dessecada, determinada a 231 nm. Dissolver 50 mg da amostra em 100 mL de ácido clorídrico 0,01 *M*.

TOXOIDE TETÂNICO ADSORVIDO
Toxoidum tetanicum adsorbatum

O toxoide tetânico é anatoxina tetânica diluída em solução salina tamponada e adsorvida pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. É uma suspensão opalescente, ligeiramente acastanhada, que não apresenta grumos ou partículas estranhas.

A preparação da toxina tetânica baseia-se no sistema de lote semente, que é uma quantidade de ampolas contendo *Clostridium tetani* liofilizado, de composição uniforme, obtido a partir de uma cepa liofilizada de procedência conhecida. Os meios de cultura utilizados para as preparações do lote-semente e do inóculo de produção devem possibilitar o crescimento de *C. tetani*. O meio de cultura para preparação da toxina tetânica deve ser isento de substâncias capazes de induzir reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. A toxina tetânica é um filtrado tóxico obtido a partir do cultivo de *C. tetani* em meio de cultura para preparação de toxina e coletado assepticamente em um único processo. Ao final do cultivo e lise das células bacterianas, verifica-se a pureza da cultura por exame microscópico ou inoculação da amostra em meios de cultura adequados. O limite de floculação (Lf/mL) é avaliado, utilizando a técnica de Ramon.

Limite de floculação – Técnica de Ramon. Distribuir em tubos de ensaio volumes variáveis de antitoxina tetânica padronizada. Adicionar em cada tubo um volume constante de 1 mL da amostra. Homogeneizar e colocar em banho-maria à temperatura de 45 ºC a 50 ºC. Observar constantemente e anotar o primeiro tubo que apresenta floculação e o tempo necessário. Determinar o Lf/mL da amostra, multiplicando o volume de antitoxina de referência adicionada ao tubo pela sua concentração em Lf.

A toxina é purificada por métodos físicos ou químicos e submetida aos controles de Lf/mL e pH.

A anatoxina tetânica é obtida por destoxificação da toxina tetânica concentrada, pela adição de agentes químicos em condições adequadas de pH e temperatura. O agente químico mais utilizado é o formaldeído à temperatura de 35 ºC. São realizados controles de pH, Lf/mL e toxicidade específica.

Toxicidade específica. Não diluir a anatoxina se não estiver concentrada. Diluir a amostra em solução fisiológica para 100 Lf/mL. Inocular 5 mL da diluição, por via subcutânea, em cada uma de pelo menos cinco cobaias de 250 g a 350 g. Observar os animais por quatro semanas. No mínimo 80% dos animais inoculados têm que sobreviver durante o período de observação, sem apresentar sinais de intoxicação tetânica. Se mais de um animal morrer de causa não específica durante o período de teste, o teste pode ser repetido mais uma vez. Se mais de um animal morrer no segundo teste, a amostra não cumpre com o teste.
A anatoxina purificada é preparada a partir de uma coleta individual ou da mistura de coletas individuais de anatoxina e, após processo de filtração esterilizante, um agente conservante pode ser adicionado. Não é permitido o uso de fenol, pois ele afeta as propriedades antigênicas do produto. A anatoxina purificada é avaliada quanto à concentração de antígeno (Lf/mL), esterilidade e aos testes que se seguem.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm.

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Atividade imunogênica. Proceder conforme descrito em *Determinação da atividade imunogênica*. No mínimo 2 UI/mL ou 40 UI/dose individual humana, conforme o método utilizado.

Toxicidade específica. Proceder conforme descrito anteriormente para anatoxina tetânica, sendo que a amostra é diluída para 500 Lf/mL e cada cobaia é inoculada com volume de 1 mL.

Pureza antigênica. Determinar o teor de nitrogênio proteico **(5.3.3.2)** e expressar a concentração em mg/mL. A pureza antigênica é determinada pela relação da concentração antigênica em Lf/mL e a concentração de nitrogênio proteico encontrada. O produto possui pureza antigênica de, no mínimo, 1000 Lf/mg de nitrogênio proteico.

Reversão de toxicidade. Diluir a amostra para 25 Lf/mL em solução fisiológica e distribuir em dois frascos. Manter um dos frascos à temperatura de 4 ºC a 8 ºC e o outro entre 35 °C e 37 ºC, por seis semanas. Ao término das seis semanas, inocular o conteúdo de cada frasco, por via subcutânea, em cinco cobaias de 250 g a 350 g, sendo o volume do inóculo de 5 mL por animal. Os animais não podem apresentar sinais de intoxicação tetânica. Se mais de um animal morrer de causa não específica durante o período de teste, o teste pode ser repetido mais uma vez. Se mais de um animal morrer no segundo teste, a amostra não cumpre com o teste.
O toxoide tetânico é preparado pela diluição e adsorção, em compostos de alumínio, de determinada quantidade de anatoxina. Uma dose para uso humano contém, no máximo, 25 Lf. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, atividade imunogênica, pH, formaldeído residual, timerosal e alumínio.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Adicionar citrato de sódio à amostra da vacina até que se obtenha uma concentração de 5% a 10% de citrato de sódio. Manter a 37 ºC por, aproximadamente, 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para a identificação. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante. Preparar gel de ágar a 1% (p/v) em solução fisiológica tamponada e distribuir em lâmina para microscópio, de modo que resulte em fina camada. Colocar em estufa a 37 ºC, sem secar. Adicionar volume de 4 mL de ágar na lâmina e colocar à temperatura de 2 ºC a 8 ºC em câmara úmida por uma hora. Fazer orifícios no gel, mantendo a mesma distância entre o orifício central e os periféricos. Preencher o orifício central com antitoxina tetânica de referência e os periféricos com a amostra em diluições variáveis. Como controle positivo, preencher um dos orifícios com toxoide tetânico fluido. Incubar a 37 ºC por 24 horas em câmara úmida e realizar a leitura em lâmpada para contraste. Observar a presença de linha de precipitação, reação de identidade entre os componentes analisados.

B. Determinar o limite de floculação (Lf/mL) pela técnica de Ramon.

C. A *Determinação da atividade imunogênica* pode ser utilizada.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOGÊNICA

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Por *Determinação do título antitóxico em soros de animais imunizados*

Imunização e sangria dos animais: inocular 0,75 mL (metade da dose total humana) da amostra, por via subcutânea, em cada uma de seis cobaias de 450 g a 550 g. Seis semanas após a inoculação, coletar sangue de cada animal e extrair o soro. Misturar volumes iguais dos soros de, no mínimo, quatro cobaias.
Controle de limite paralisante (Lp) da toxina tetânica padronizada: distribuir em uma série de tubos de ensaio, volumes constantes de antitoxina tetânica de referência, aferida por padrão internacional, de maneira que o volume a inocular contenha 0,1 UI. Acrescentar volumes variáveis de toxina tetânica padronizada e igualar os volumes de todos os tubos com solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona. Homogeneizar e incubar a 37 ºC por 60 minutos. Inocular um volume constante de cada diluição, por via subcutânea, em dez camundongos albinos suíços pesando entre 17 g e 22 g. Observar os animais quanto aos sintomas de paralisia pelo período de 96 horas após a inoculação. Calcular a dose paralisante 50% (Lp/10/50) por método estatístico adequado.

Titulação do soro: distribuir, em uma série de tubos de ensaio, volumes variáveis do soro da amostra e do soro de referência. Acrescentar volume constante de toxina tetânica padronizada, de maneira que o volume a inocular por animal contenha 1 Lp/10/50. Igualar os volumes de todos os tubos com solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona. Homogeneizar e incubar a 37 ºC por 60 minutos. Inocular cada mistura, por via subcutânea, em no mínimo seis camundongos albinos suíços pesando entre 17 g e 22 g. Observar os animais por um período de 96 horas após a inoculação e registrar o número de animais não paralíticos em cada mistura. Os valores das doses efetivas médias (DE50) da amostra e da antitoxina de referência são determinados, utilizando método estatístico adequado. Os limites de confiança (P = 0,95) devem estar compreendidos entre 50% e 200% da

potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/mL;
A = DE_{50} da antitoxina de referência;
B = DE_{50} da amostra;
C = UI/mL da antitoxina de referência.
No mínimo 2 UI/mL de soro. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Pode ser utilizado um método *in vitro*, como ensaio imunoenzimático ou ToBI (*toxin-binding inhibition test*), desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

B. Por *Desafio em camundongos*. Essa determinação comprova a atividade imunogênica do produto, por comparação com um toxoide tetânico de referência aferido por um padrão internacional. Separar nove grupos de, no mínimo, 20 camundongos de 11 g a 14 g para a realização do ensaio e um grupo de 12 animais, sem inocular, para controle da toxina de desafio. Efetuar quatro diluições da amostra com solução fisiológica, utilizando um fator de diluição 2. Proceder da mesma forma com o toxoide tetânico de referência. Imunizar, por via subcutânea, com um volume de 0,5 mL de cada diluição da amostra por animal. Vinte e oito dias após a imunização, diluir a toxina tetânica padronizada em solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona, de modo a conter 200 Dp_{50}/mL (dose paralisante média) e inocular cada camundongo imunizado, por via subcutânea, com um volume de 0,5 mL da dose desafio de toxina padronizada. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos e sem paralisia em cada diluição. Paralelamente, como controle da dose desafio, efetuar diluições 1:50, 1:100 e 1:200 a partir da solução de toxina que contém 200 Dp_{50}/mL, utilizando o mesmo diluente. Inocular 0,5 mL de cada diluição, por via subcutânea, no grupo de 12 animais separados, divididos em grupo de quatro animais. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos e paralíticos em cada diluição. Todos os animais de controle do desafio, inoculados com a diluição 1:50, devem morrer ou apresentar paralisia e nenhum dos animais inoculados com a diluição 1:200 deve morrer ou apresentar paralisia. Calcular as doses efetivas médias (DE_{50}) da amostra em teste e do toxoide de referência, utilizando um método de análise estatístico adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, os limites de confiança (P = 0,95) devem estar compreendidos entre 50% e 200% da potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/dose individual humana;
A = DE_{50} do toxoide de referência;
B = DE_{50} da amostra;
C = UI/dose individual humana do toxoide de referência.

No mínimo 40 UI/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

C. Por *Desafio em cobaias*. Essa determinação comprova a atividade imunogênica do produto, por comparação com um toxoide tetânico de referência aferido por um padrão internacional. Separar oito grupos de, no mínimo, 16 cobaias de 250 g a 350 g para a realização do ensaio e um grupo de 12 animais, sem inocular, para controle da toxina de desafio. Efetuar quatro diluições da amostra com solução fisiológica, utilizando um fator de diluição 2. Proceder da mesma forma com o toxoide tetânico de referência. Imunizar, por via subcutânea, com um volume de 1 mL de cada diluição da amostra por animal. Após 28 dias da imunização, diluir a toxina tetânica padronizada em solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona, de modo a conter 100 DL_{50}/mL e inocular cada cobaia imunizada, por via subcutânea, com um volume de 1 mL da dose desafio de toxina padronizada. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada diluição. Paralelamente, como controle da dose desafio, efetuar diluições 1:50, 1:100 e 1:200 a partir da solução de toxina que contém 100 DL_{50}/mL, utilizando o mesmo diluente. Inocular 1 mL de cada diluição, por via subcutânea, no grupo de 12 animais separados, divididos em grupo de quatro animais. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos em cada diluição. Todos os animais de controle do desafio inoculados com a diluição 1:50 devem morrer e nenhum dos animais inoculados com a diluição 1:200 deve morrer. Calcular as doses efetivas médias (DE_{50}) da amostra e do toxoide de referência, utilizando um método de análise estatístico adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, os limites de confiança (P=0,95) devem estar compreendidos entre 50% e 200% da potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/dose individual humana;
A = DE_{50} do toxoide de referência;
B = DE_{50} da amostra;
C = UI/dose individual humana do toxoide de referência.

No mínimo 40 UI/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre com o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO ADULTO
Vaccinum diphtheriae et tetani adsorbatum

vacina adsorvida difteria e tétano adulto; 09039

A vacina é uma mistura de anatoxinas diftérica e tetânica**,** diluídas em solução salina tamponada e adsorvidas pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. É uma suspensão opalescente, ligeiramente acastanhada, que não apresenta grumos ou partículas estranhas.
Componente diftérico: a anatoxina diftérica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

A vacina é preparada pela diluição e adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxina diftérica e anatoxina tetânica purificadas. Uma dose para uso humano deve conter no máximo 2,5 Lf para o componente diftérico e 25 Lf para o componente tetânico. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, atividade imunogênica, pH, formaldeído residual, timerosal e alumínio.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpre a *Identificação* descrita na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil.*

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

DOSEAMENTO

A atividade imunogênica da vacina é determinada para cada um dos componentes individuais. Não existem padrões internacionais de referência para as vacinas combinadas e a atividade de cada componente se expressa em unidades internacionais, mediante a comparação de padrões de referência calibrados com padrões de referência dos componentes individuais.

Componente diftérico. Proceder conforme *Doseamento*, utilizando um dos métodos descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil.*

A. No mínimo 0,5 UI/mL.

B. No mínimo 2 UI/dose individual humana.

É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.
Componente tetânico. Proceder conforme *Doseamento*, utilizando um dos métodos descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

A. No mínimo 2 UI/mL.

B. No mínimo 40 UI/dose individual humana.

C. No mínimo 40 UI/dose individual humana.

É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA E TÉTANO INFANTIL
Vaccinum diphtheriae et tetani adsorbatum

vacina adsorvida difteria e tétano infantil; 09988

A vacina é uma mistura de anatoxinas diftérica e tetânica**,** diluídas em solução salina tamponada e adsorvidas pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. É uma suspensão opalescente, ligeiramente acastanhada, em que não há grumos ou partículas estranhas.

Componente diftérico: a preparação da toxina diftérica baseia-se no sistema de lote-semente, que é uma quantidade de ampolas contendo *Corynebacterium diphtheriae* liofilizado, de composição uniforme, obtido a partir de cepa liofilizada de procedência conhecida. Os meios de cultura utilizados para as preparações do lote-semente e do inóculo de produção devem possibilitar o crescimento de *C. diphtheriae.* O meio de cultura para preparação da toxina diftérica deve ser isento de substâncias capazes de induzir reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. Ao final do cultivo e lise das células bacterianas, verifica-se a pureza da cultura por exame microscópico ou inoculação da amostra em meios de cultura adequados. A toxina diftérica é um filtrado tóxico obtido a partir do cultivo de *C. diphtheriae* em meio de cultura para produção de toxina e coletado assepticamente em um único processo. O limite de floculação (Lf) é avaliado utilizando a técnica de Ramon, como descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. A purificação da toxina é realizada por métodos físicos ou químicos e a amostra é submetida aos controles de Lf/mL e pH.

A anatoxina diftérica é obtida por destoxificação da toxina diftérica concentrada, pela adição de agentes químicos em condições adequadas de pH e temperatura. O agente químico mais utilizado é o formaldeído à temperatura de 35 ºC. São realizados controles de pH, Lf/mL e toxicidade específica.

Toxicidade específica

Prova subcutânea: diluir a amostra em solução fisiológica para 100 Lf/mL. Inocular 5 mL da diluição, por via subcutânea, em cada uma de pelo menos cinco cobaias de 250 g a 350 g. Observar os animais por quatro semanas. No mínimo 80% dos animais inoculados devem sobreviver durante o período de observação, sem apresentar sinais de intoxicação diftérica. Se mais de um animal morrer de causa não específica durante o período de teste, o teste pode ser repetido mais uma vez. Se mais de um animal morrer no segundo teste, a amostra não cumpre com o teste.
Prova intradérmica: diluir a amostra em solução fisiológica para 100 Lf/mL. Inocular 0,2 mL da diluição, por via intradérmica, em uma cobaia previamente depilada. Como controle, inocular o mesmo volume de solução fisiológica no mesmo animal. Após 48 horas de observação, não devem ser formados eritemas específicos nos locais de inoculação.

A anatoxina purificada é preparada a partir de coleta individual ou da mistura de coletas individuais de anatoxinas que, após processo de filtração esterilizante, um agente conservante pode ser adicionado. Não é permitido o uso de fenol, pois ele afeta as propriedades antigênicas do produto. Amostras do produto são avaliadas quanto à concentração de antígeno (Lf/mL), esterilidade e aos controles que se seguem.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano.* No máximo 200 ppm.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano.* No máximo 200 ppm.

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Atividade imunogênica. Proceder conforme descrito em *Determinação da atividade imunogênica.* No mínimo 2 UI/mL ou 30 UI/dose individual humana, conforme o método utilizado.

Toxicidade específica. Proceder à prova subcutânea conforme descrito anteriormente para anatoxina diftérica, sendo que a amostra é diluída para 500 Lf/mL e cada cobaia é inoculada com volume de 1 mL.

Pureza antigênica. Determinar o teor de nitrogênio proteico **(5.3.3.2)** e expressar a concentração em mg/mL. A pureza antigênica é determinada pela relação da concentração antigênica em Lf/mL e a concentração de nitrogênio proteico encontrada. O produto possui pureza antigênica de, no mínimo, 1500 Lf/mg de nitrogênio proteico.

Reversão de toxicidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. Os animais não podem apresentar sinais de intoxicação diftérica e devem apresentar ganho de peso.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

A vacina adsorvida difteria e tétano infantil é preparada pela diluição e adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica. Uma dose para uso humano contém, no máximo, 30 Lf e 25 Lf para os componentes diftérico e tetânico, respectivamente. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, atividade imunogênica, pH, formaldeído residual, timerosal e alumínio.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Componente diftérico

A. Adicionar citrato de sódio à amostra da vacina até que se obtenha uma concentração de 5% a 10% de citrato de sódio. Manter a 37 ºC por aproximadamente 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para a identificação. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante. Preparar gel de ágar a 1% (p/v) em solução fisiológica tamponada e distribuir em lâmina para microscópio, de modo que resulte em fina camada. Colocar em estufa a 37 ºC, sem secar. Adicionar volume de 4 mL de ágar na lâmina e colocar à temperatura de 2 ºC a 8 ºC em câmara úmida por uma hora. Fazer orifícios no gel, mantendo a mesma distância entre o orifício central e os periféricos. Preencher o orifício central com antitoxina diftérica de referência e os periféricos com a amostra em diluições variáveis. Como controle positivo, preencher um dos orifícios com toxoide diftérico fluido. Incubar a 37 ºC por 24 horas em câmara úmida e realizar a leitura em lâmpada para contraste. Observar a presença de linha de precipitação, reação de identidade entre os componentes analisados.

B. Determinar o limite de floculação (Lf/mL) pela técnica de Ramon, conforme descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

C. A *Determinação da atividade imunogênica* pode ser utilizada.

Componente tetânico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOGÊNICA

A atividade imunogênica da vacina é determinada para cada um dos componentes. Não existem padrões internacionais de referência para as vacinas combinadas e a atividade de cada componente se expressa em unidades internacionais, mediante a comparação com padrões de referência calibrados contra os padrões de referência dos componentes.

Componente diftérico

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Por *Determinação do título antitóxico em soros de animais imunizados.*

Imunização e sangria dos animais: inocular 0,75 mL (metade da dose total humana) da amostra, por via subcutânea, em cada uma de seis cobaias de 450 g a 550 g. Quatro semanas após a inoculação, coletar sangue de cada animal, por punção cardíaca, e extrair o soro. Misturar volumes iguais dos soros de, no mínimo, quatro cobaias que apresentem ganho de peso.

Controle do limite morte (L+/50) da toxina diftérica padronizada: distribuir em uma série de tubos de ensaio volumes constantes de antitoxina diftérica de referência, aferida por padrão internacional, de maneira que o volume a inocular contenha 1 UI. Acrescentar volumes variáveis de toxina diftérica padronizada e igualar os volumes de todos os tubos com solução salina tamponada contendo 1% (p/v)

de peptona. Homogeneizar e incubar a 37 ºC por 60 minutos. Inocular volume constante de cada diluição, por via subcutânea, em quatro cobaias pesando entre 250 g e 350 g. Observar os animais em relação à mortalidade por período de 96 horas após a inoculação. Calcular a dose letal 50% (L+/50) por método estatístico adequado.

Titulação do soro: distribuir em uma série de tubos de ensaio, volumes variáveis do soro. Acrescentar volume constante de toxina diftérica padronizada, de maneira que o volume a inocular por animal contenha 1 L+/50 (limite morte). Igualar os volumes de todos os tubos com solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona. Homogeneizar e incubar a 37 ºC por 60 minutos. Inocular cada mistura, por via subcutânea, no mínimo quatro cobaias pesando 250 g e 350 g. Observar os animais por período de 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada mistura. Os valores das doses efetivas médias (DE50) da amostra e da antitoxina de referência são determinados, utilizando método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa da resposta produzida (DE50) esteja entre a maior e menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que devem apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança (p = 0,95) estejam entre 50% e 200% da potência calculada; (c) paralelismo entre a curva da referência e amostras. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/mL;
A = DE_{50} da antitoxina de referência;
B = DE_{50} da amostra;
C = UI/mL da antitoxina de referência.

No mínimo 2 UI/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Pode ser utilizado um método *in vitro*, como ensaio imunoenzimático ou citotoxicidade em célula Vero, desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

B. Por *Desafio em cobaia.* Comprovar a atividade imunogênica do produto em teste por comparação com toxoide diftérico de referência. Separar oito grupos de, no mínimo, 16 cobaias pesando entre 250 g e 350 g. Efetuar quatro diluições da amostra em teste com solução de cloreto de sódio a 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição 2. Proceder da mesma forma com o toxoide diftérico de referência. Inocular, por via subcutânea, volume de 1 mL por animal, de cada diluição. Separar um grupo de 12 animais sem inocular, para controle da toxina de desafio. Após 28 dias da inoculação, diluir a toxina diftérica padronizada em solução salina tamponada contendo 1% (p/v) de peptona, de modo a conter 100 DL_{50}/mL (dose letal 50%) e inocular cada cobaia imunizada, por via subcutânea, com volume de 1 mL da dose desafio de toxina. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada diluição. Paralelamente, como controle da dose desafio, efetuar diluição 1:100 a partir da solução de toxina que contém 100 DL_{50}/mL, utilizando o mesmo diluente. Inocular 1 mL da diluição, por via subcutânea, em cada uma de cinco cobaias. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos na diluição. Calcular as Doses Efetivas 50% (DE_{50}) da amostra em teste e do toxoide de referência, utilizando método de análise estatística adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, os limites de confiança (P = 0,95) devem estar

compreendidos entre 50% e 200% da potência estimada e a análise estatística deve mostrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta. Calcular a atividade imunogênica pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/dose individual humana;
A = DE_{50} do toxoide de referência;
B = DE_{50} da amostra;
C = UI/dose individual humana do toxoide de referência.

No mínimo 30 UI/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente tetânico. Proceder às determinações de atividade imunogênica, utilizando um dos métodos descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. No mínimo 2 UI/mL (método **A.**). No mínimo 40 UI/dose individual humana (método **B.**). No mínimo 40 UI/dose individual humana (método **C.**). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO E PERTUSSIS
Vaccinum diphtheriae et tetani et pertussis adsorbatum

vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis; 09040

A vacina é uma mistura de anatoxinas diftérica e tetânica e suspensão de células inteiras mortas de *Bordetella pertussis*, diluídas em solução salina tamponada e adsorvidas pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. É uma suspensão opalescente, ligeiramente acastanhada, que não apresenta grumos ou partículas estranhas.

Componente diftérico: a anatoxina diftérica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica purificada cumpre com as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis: a vacina pertussis é suspensão homogênea de células inteiras mortas de uma ou mais cepas de *B. pertussis* em solução fisiológica. As cepas empregadas na preparação de vacinas são identificadas por registros históricos completos, incluindo sua origem, características de isolamento e todas as provas efetuadas periodicamente para verificar as características das cepas. As cepas devem ser liofilizadas na fase I contendo pelo menos os aglutinógenos 1, 2 e 3 e mantidas à temperatura máxima de 4 ºC.

A produção da vacina se baseia no sistema de lote-semente, que deve ter as mesmas características do lote original. O meio de cultura utilizado no cultivo de *B. pertussis* deve possibilitar a manutenção dos aglutinógenos e da atividade imunogênica. Esse meio não pode aumentar a toxicidade específica da cepa e não conter substâncias capazes de induzir reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. Ao final do cultivo, as bactérias são coletadas, lavadas para remover substâncias derivadas do meio de cultura e ressuspendidas em solução fisiológica isotônica. Amostras das coletas individuais são avaliadas quanto à opacidade e pureza bacteriana. A suspensão pode ser inativada pelo aquecimento a 56 ºC por tempo determinado ou destoxificada pela adição de agentes químicos em condições adequadas de pH, temperatura e tempo de tratamento. Amostras da suspensão são avaliadas quanto à inativação bacteriana, semeando em meio de cultura apropriado, à pureza, identificação, esterilidade e submetidas aos controles que se seguem.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm.

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de atividade imunogênica. Proceder conforme descrito para o produto final. No mínimo 4 UI/dose.

Presença de aglutinógeno. Transferir 50 µL da amostra para três lâminas de vidro e adicionar 50 µL de soro mono-específico de aglutinógenos 1, 2 e 3 sobre as amostras em cada uma das lâminas. Homogeneizar por um minuto e deixar em repouso por três minutos. Observar a aglutinação da amostra nas três lâminas, no máximo, por cinco minutos. A cepa de *B. pertussis* deve apresentar aglutinação com os três soros monovalentes específicos.

Opacidade. Realizar em período máximo de 15 dias após a preparação da suspensão. Aferir com padrão turbidimétrico aprovado pela autoridade nacional de controle. É atribuído a esse padrão valor de 10^6 unidades opacimétricas, quando examinado por fotometria, utilizando filtro verde, ao comprimento de onda de 530 nm. Tal grau de opacidade corresponde aproximadamente a 10^9 bactérias/mL. Colocar 1 mL da amostra em tubo de ensaio e adicionar solução salina fisiológica até opacidade semelhante ao padrão. Comparar visualmente a opacidade contra a preparação de referência de opacidade. A unidade de opacidade (UOp) é determinada pela equação:

$$UOp/mL = \frac{volume\ final\ da\ amostra\ diluída}{volume\ inicial} \times 10$$

Para o componente pertussis, a concentração de bactérias deve ser no máximo de 20 UOp/dose.

Toxicidade específica. Diluir a amostra em solução fisiológica para concentração máxima correspondente a 20 UOp/dose. Utilizar dois grupos com, pelo menos, 10 camundongos albinos suíços pesando entre 14 e 16 g. Imediatamente antes da inoculação, determinar o peso total dos animais. Inocular 0,5 mL da amostra diluída, por via intraperitoneal, em cada camundongo do primeiro grupo. Para o segundo grupo, proceder conforme descrito, inoculando solução fisiológica contendo a mesma quantidade de agente conservante que o inóculo injetado nos animais do grupo de prova. Determinar o peso total de cada um dos grupos de camundongos no 3º e 7º dia após a inoculação. O produto é considerado atóxico se (a) no 3º dia o peso total do grupo é no mínimo seu peso inicial; (b) no 7º dia a média de ganho de peso do grupo inoculado com a amostra é no mínimo 60% da média de ganho de peso do grupo controle negativo, e (c) morrerem no máximo 10% dos animais inoculados com a amostra.

A vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis é preparada pela diluição e adsorção em compostos de alumínio de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica e células inteiras mortas de *B. pertussis*. Uma dose individual humana pode conter, no máximo, 30 e 25 Lf, para os componentes diftérico e tetânico, respectivamente. Para o componente pertussis, a concentração de bactérias deve ser no máximo de 20 UOp/dose. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, pH, formaldeído residual, timerosal, alumínio, toxicidade específica e determinação de atividade imunogênica para cada componente.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Adicionar citrato de sódio à amostra da vacina até que se obtenha uma concentração de 5% a 10% de citrato de sódio. Manter a 37 ºC por aproximadamente 16 horas e centrifugar. Utilizar o sobrenadante para identificar os componentes diftérico e tetânico, usando antissoros específicos. Ressuspender o precipitado para identificar o componente pertussis. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante.

Componente diftérico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil.*

Componente tetânico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis

A. Transferir 50 µL da amostra em lâmina de vidro e adicionar o mesmo volume do antissoro polivalente de *B. pertussis*. Homogeneizar a mistura com movimentos circulares, por um minuto, e manter o material em repouso por três minutos. Observar a aglutinação da amostra, no máximo por cinco minutos.

B. A *Determinação da atividade imunogênica* pode ser utilizada.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Toxicidade específica para o componente pertussis. Cumpre o teste já descrito.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOGÊNICA

A atividade imunogênica da vacina é determinada para cada um dos componentes. Não existem padrões internacionais de referência para as vacinas combinadas e a atividade de cada componente se expressa em unidades internacionais, mediante a comparação com padrões de referência aferidos por padrões de referência dos componentes.

Componente diftérico. Proceder à determinação de atividade imunogênica, utilizando um dos métodos descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*. No mínimo 2 UI/mL (método A). No mínimo 30 UI/dose individual humana (método B). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente tetânico. Proceder às determinações de atividade imunogênica, utilizando um dos métodos descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. No mínimo 2 UI/mL (método A). No mínimo 60 UI/dose individual humana (método B). No mínimo 40 UI/dose individual humana (método C). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente pertussis. A atividade imunogênica é determinada pela avaliação comparativa diante da vacina de referência padronizada contra o padrão internacional para a vacina pertussis. Utilizar camundongos albinos suíços pesando entre 12 g e 16 g, procedentes de grupo homogêneo de linhagem padronizada. Os animais devem ser preferencialmente do mesmo sexo. Para cada diluição da amostra e da vacina de referência utilizar, no mínimo, 16 animais. Para controle da dose desafio, separar grupos de pelo menos 10 camundongos.

Imunização dos animais: efetuar, pelo menos, três diluições seriadas da amostra e da vacina de referência em solução fisiológica tamponada, de modo que a diluição intermediária se aproxime de uma proteção de 50% dos camundongos dos efeitos letais da dose desafio de *B. pertussis*. Sugere-se utilizar fator de diluição 5 (cinco). Inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL das diluições em cada um dos camundongos de cada grupo de imunização. Manter os animais dos grupos controle sem inocular. O intervalo entre a imunização e o desafio é de 14 a 17 dias.

Desafio: reconstituir uma ampola do lote da cepa de *B. pertussis* com solução aquosa contendo peptona de caseína 1% (p/v) e NaCl 0,6% (p/v), pH 7,0 a 7,2. A cepa desafio deve ser capaz de induzir a morte em camundongos após 14 dias de uma inoculação intracerebral, devendo ser rejeitada caso haja morte de mais de 20% dos animais nas primeiras 48 horas.

Semear em tubos de ensaio e placas contendo meio apropriado e incubar entre 35 °C e 37 ºC por até 48 horas. Fazer um repique do cultivo em placas e tubos com ágar Bordet-Gengou ou outro meio apropriado e incubar entre 35 °C e 37 ºC por 24 horas. Um segundo repique deve ser realizado nas mesmas condições descritas e incubado por 18 horas. Os cultivos obtidos nas placas são utilizados para observar as colônias e identificá-las por soroaglutinação contra antissoro específico para a cepa. Alternativamente, alíquotas da suspensão para o desafio podem ser congeladas e mantidas em nitrogênio líquido e, após o descongelamento e diluição, podem ser utilizadas diretamente como cultivo de desafio. Preparar suspensão, utilizando diluente adequado em que os micro-organismos se mantenham viáveis, de modo a conter 10 UOp/mL, por comparação com o 5º padrão internacional de opacidade. Ajustar a solução de maneira que cada dose desafio contenha 100 a 1000 DL_{50} (dose letal 50%) em 30 µL e inocular em cada camundongo imunizado, por via intracerebral. Para se obter estimativa da DL_{50}, inocular diluições seriadas da dose desafio, por via intracerebral, em cada um dos grupos controle. Cultivar diluição da dose desafio em meio Bordet-Gengou para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC). O valor da dose efetiva 50% (DE_{50}) da amostra em teste é determinado, utilizando um método estatístico adequado. O teste é válido se**: (**a) a faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) estiver entre a maior e a menor diluição utilizada da amostra teste e do padrão; (b) os limites de confiança (P = 0,95) estiverem compreendidos entre 65% e 156% da potência estimada e a análise estatística demonstrar linearidade e paralelismo das curvas dose resposta; (c) a dose de desafio estiver entre 100 e 1000 DL_{50} e (d) a DL_{50} contiver no máximo 300 unidades formadoras de colônias. A atividade imunogênica é calculada pela equação:

$$AI = \frac{A}{B} \times C$$

em que

AI = atividade imunogênica em UI/dose individual humana;
A = DE_{50} da vacina pertussis de referência;
B = DE_{50} da amostra;
C = UI/dose individual humana da vacina de referência.

A potência deve ser de, no mínimo, 4 UI/dose individual humana e o limite inferior de confiança (P=0,95) estimado não pode ser menor que 2 UI/dose. Se a atividade imunogênica determinada não cumprir com a potência ou com o limite inferior de confiança, o teste pode ser repetido. O produto cumpre os requisitos se a média geométrica ponderada de todos os resultados válidos apresentar potência mínima e limite inferior de confiança (P=0,95) para aprovação. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)

Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis adsorbatum et haemophili stirpe b conjugatum

A vacina adsorvida difteria, tétano, pertussis e *Haemophilus influenzae* b (conjugada) é uma vacina combinada composta de anatoxinas diftérica e tetânica e suspensão de células inteiras mortas de *Bordetella pertussis* e poliribosil-ribitol fosfato (PRP) purificado de *Haemophilus influenzae* b covalentemente ligado a uma proteína carreadora, diluídas em solução salina tamponada e adsorvidas pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. O produto pode ser apresentado como uma preparação líquida tetravalente no mesmo frasco ou com o componente *Haemophilus influenzae* b liofilizado em frasco-ampola, o qual é reconstituído, imediatamente antes do uso, pela vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.

Componente diftérico: a anatoxina diftérica purificada cumpre com as especificações de produção e controles, descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica purificada cumpre com as especificações de produção e controles**,** descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis: a vacina pertussis cumpre com as especificações de produção e controles, descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*.

Componente polissacarídeo: cumpre com as especificações de produção e controles**,** descritos na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

Nos ensaios de potência na vacina combinada, pode ser utilizada, como referência, uma vacina combinada ou cada um dos seus antígenos em separado. Caso isso não seja possível devido à interação entre os componentes da vacina combinada ou diferença na composição entre a vacina de referência monocomponente e a vacina sob teste, um lote de vacina combinada que tenha mostrado efetividade em estudo clínico ou então um lote representativo é usado como vacina de referência. Na produção de um lote representativo é necessário seguir rigorosamente o processo de produção utilizado para o lote testado em estudo clínico. A vacina de referência pode ser estabelecida por um método adequado que não interfere no procedimento do ensaio.

As vacinas produto acabado a granel são preparadas separadamente, sendo uma delas pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis* e a outra com o componente *Haemophilus influenzae* b. O produto também pode ser formulado pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis* e PRP conjugado. Um conservante adequado pode ser adicionado no produto. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, pH, toxicidade específica para pertussis, formaldeído residual, preservativo antimicrobiano, alumínio, determinação de atividade imunogênica para os componentes diftérico, tetânico, pertussis e polissacarídeo residual.

Os produtos são envasados em recipientes adequados, rotulados e submetidos aos controles requeridos.

As vacinas preparadas como produto acabado a granel, assim como envasadas, separadamente, uma delas contendo os componentes diftérico, tetânico e pertussis e a outra o componente *Haemophilus influenzae* b, devem estar de acordo com as respectivas monografias de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver a amostra da vacina adsorvida com citrato de sódio a pH 9,0 para obter solução a 10% (p/v). Manter a 37 °C durante aproximadamente 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para identificar cada um dos componentes, diftérico ou tetânico. Ressuspender o precipitado para identificar o componente pertussis. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante.

Componente diftérico. Cumpre os testes de *Identificação* para *Componente diftérico* descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico. Cumpre os testes de *Identificação* descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis. Cumpre os testes de *Identificação* para *Componente pertussis* descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.*

Componente *Haemophilus influenzae* b. Cumpre os testes de *Identificação* descritos na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina líquida tetravalente ou, no caso do componente haemophilus liofilizado, o pH deve ser determinado após a reconstituição com o diluente adequado. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Cumpre os testes descritos em *Ensaios físico-químicos* das monografias *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)* e *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Cumpre os testes descritos em *Testes de segurança biológica* das monografias *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)* e *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.*

DOSEAMENTO

Componente diftérico

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente tetânico

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente pertussis

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente *Haemophilus influenzae* b

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, HEPATITE B (RECOMBINANTE) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)

Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, hepatitidis B adsorbatum et haemophili stirpe b conjugatum

A vacina adsorvida difteria, tétano, pertussis, hepatite B (recombinante) e *Haemophilus influenzae* b (conjugada) é uma vacina combinada composta de anatoxinas diftérica e tetânica, suspensão de células inteiras mortas de *Bordetella pertussis*, suspensão de antígeno (HBsAg) purificado da superfície do vírus da hepatite B, poliribosil-ribitol fosfato (PRP) purificado de *Haemophilus influenzae* b covalentemente ligado a uma proteína carreadora, diluídas em solução salina tamponada e adsorvidas pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. O produto pode ser apresentado com o componente *Haemophilus influenzae* b em um frasco-ampola separado, o qual é misturado aos outros componentes da vacina imediatamente antes do uso.

Componente diftérico: a anatoxina diftérica purificada cumpre as especificações de produção e controles**,** descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica purificada cumpre com as especificações de produção e controles, descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis: a vacina pertussis cumpre com as especificações de produção e controles, descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*.

Componente hepatite B: a vacina hepatite B cumpre com as especificações de produção e controles, descritos na monografia de *Vacina hepatite B (recombinante).*

Componente Polissacarídeo: cumpre com as especificações de produção e controles, descritos na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

Se a vacina é apresentada com o componente *Haemophilus influenzae* b em frasco-ampola separado, os ensaios realizados nos componentes difteria, tétano, pertussis e hepatite B devem mostrar consistência em um número adequado de lotes da vacina combinada reconstituída antes do uso. Para controles de rotina subsequentes, os testes realizados nesses componentes devem ser desenvolvidos sem a mistura com o componente *Haemophilus influenzae* b.

Nos ensaios de potência na vacina combinada pode ser utilizada, como referência, uma vacina combinada ou cada um dos seus antígenos em separado. Caso isso não seja possível devido à interação entre os componentes da vacina combinada ou diferença na composição entre a vacina de referência monocomponente e a vacina sob teste, um lote de vacina combinada que tenha mostrado efetividade em estudo clínico ou então um lote representativo é usado como vacina de referência. Na produção de um lote representativo é necessário seguir rigorosamente o processo de produção utilizado para o lote testado em estudo clínico. A vacina de referência pode ser estabelecida por um método adequado que não interfere no procedimento do ensaio.

As vacinas produto acabado a granel são preparadas separadamente, sendo uma delas pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis* e hepatite B (recombinante) e a outra com o componente *Haemophilus influenzae* b. O produto também pode ser formulado pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis*, PRP conjugado e hepatite B (recombinante). Um preservativo antimicrobiano adequado pode ser adicionado no produto. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, pH, toxicidade específica para pertussis, formaldeído residual, preservativo

antimicrobiano, alumínio, determinação de atividade imunogênica para os componentes diftérico, tetânico, pertussis, hepatite B e polissacarídeo residual.

Os produtos são envasados em recipientes adequados, rotulados e submetidos aos controles requeridos.

As vacinas preparadas como produto acabado a granel, assim como envasadas, separadamente, uma delas contendo os componentes diftérico, tetânico, pertussis e hepatite B, e a outra o componente *Haemophilus influenzae* b, devem estar de acordo com as respectivas monografias de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*, *Vacina hepatite B (recombinante)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver a amostra da vacina adsorvida com citrato de sódio a pH 9,0 para se obter solução a 10% (p/v). Manter a 37 °C por aproximadamente 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para identificar cada um dos componentes, diftérico ou tetânico. Ressuspender o precipitado para identificar o componente pertussis. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante.

Componente diftérico. Cumpre a *Identificação* descrita na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico. Cumpre a *Identificação* descrita na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis. Cumpre a *Identificação* descrita na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*.

Componente hepatite B. Cumpre a *Identificação* descrita na monografia de *Vacina hepatite B (recombinante).*

Componente *Haemophilus influenzae* b. Cumpre os testes de *Identificação* descritos na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina líquida pentavalente ou, no caso do componente haemophilus liofilizado, o pH deve ser determinado após a reconstituição com o diluente adequado. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Realizar os ensaios requeridos em *Ensaios físico-químicos*, descritos nas monografias *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*, *Vacina hepatite B (recombinante)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Realizar os ensaios requeridos em *Testes de segurança biológica*, descritos nas monografias *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis; Vacina hepatite B (recombinante)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

DOSEAMENTO

Componente diftérico

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente tetânico

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente pertussis

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente hepatite B

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina hepatite B (recombinante)*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente *Haemophilus influenzae* b

Cumpre o *Doseamento* descrito na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)

Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, poliomyelitidis typus I, II, III adsorbatum et haemophili stirpe b conjugatum

A vacina adsorvida difteria, tétano, pertussis, poliomielite 1, 2 e 3 (inativada) e *Haemophilus influenzae* b (conjugada) é uma vacina combinada composta de anatoxinas diftérica e tetânica, suspensão de células inteiras mortas de *Bordetella pertussis*, cepas de poliovírus humano tipos 1, 2 e 3 cultivados em células e inativadas por um método adequado e poliribosil-ribitol fosfato (PRP) purificado de *Haemophilus influenzae b* covalentemente ligado a uma proteína carreadora; diluídos em solução salina tamponada e adsorvidos pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. O produto pode ser apresentado com o componente *Haemophilus influenzae* b em um frasco-ampola separado, o qual é misturado aos outros componentes da vacina imediatamente antes do uso.

Componente diftérico: a anatoxina diftérica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis: a vacina pertussis cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.*

Componente poliomielite: a vacina poliomielite cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada).*

Componente polissacarídeo: cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae* b *(conjugada).*

Os ensaios realizados em cada um dos componentes devem manter consistência em um número adequado de lotes da vacina combinada reconstituída antes do uso. Para controles de rotina subsequentes, os testes realizados nesses componentes devem ser desenvolvidos sem a mistura com o componente *Haemophilus influenzae* b.

Nos ensaios de potência na vacina combinada, podem ser utilizadas vacinas de referência monocomponentes. Caso isso não seja possível devido à interação entre os componentes da vacina combinada, ou diferença na composição entre a vacina de referência monocomponente e a vacina sob teste; um lote de vacina combinada que tenha mostrado efetividade em estudo clínico ou então um lote representativo é usado como vacina de referência. Na produção de um lote representativo é necessário seguir rigorosamente o processo de produção utilizado para o lote testado em estudo clínico. A vacina de referência pode ser estabelecida por um método adequado que não interfere no procedimento do ensaio.

As vacinas produto acabado a granel são preparadas separadamente, sendo uma delas pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis* e poliomielite, e a outra com o componente *Haemophilus influenzae b.* O produto também pode ser formulado pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de B. pertussis, PRP conjugado e poliomielite. Um preservativo antimicrobiano adequado pode ser adicionado no produto. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, pH, toxicidade específica

para pertussis, formaldeído residual, preservativo antimicrobiano, alumínio, polissacarídeo residual e determinação de atividade imunogênica para os componentes diftérico, tetânico e pertussis.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver a amostra da vacina adsorvida com citrato de sódio a pH 9,0 para se obter solução a 10% (p/v). Manter a 37 ºC por aproximadamente 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para identificar cada um dos componentes, diftérico ou tetânico. Suspender o precipitado para identificar o componente pertussis. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante.

Componente diftérico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.*

Componente poliomielite. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada).*

Componente *Haemophilus influenzae* b. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina líquida contendo todos os antígenos ou, no caso do componente haemophilus liofilizado, o pH deve ser determinado após a reconstituição com o diluente adequado. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaios físico-químicos* das monografias de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis, Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* das monografias de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis, Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

DOSEAMENTO

Componente diftérico

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente tetânico

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente pertussis

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis.* É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente poliomielite

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada).*

Componente *Haemophilus influenzae b*

Proceder conforme descrito em *Concentração de PRP* na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada).*

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA BCG
Vaccinum BCG

A vacina BCG liofilizada é uma vacina viva obtida a partir do cultivo do Bacilo de Calmette e Guérin, cepa atenuada de *Mycobacterium bovis*, de inocuidade e eficácia reconhecidas, para conferir proteção ao homem contra a tuberculose. O liofilizado é massa bacilar dessecada, com consistência de pó, de cor esbranquiçada ou amarelo pálido**,** que reconstituída, é ligeiramente turva e de aspecto homogêneo.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente, podendo ser realizados no máximo oito subcultivos a partir da cepa original. A cepa selecionada deve conservar sua estabilidade e manter seu caráter não-patogênico tanto para o homem quanto para animais de experimentação. Essa vacina deve ser produzida por equipe em boas condições de saúde, que não trabalhe com agentes infecciosos e, em particular, com cepas virulentas de *Mycobacterium tuberculosis.*

O lote-semente de trabalho deve cumprir com os seguintes requisitos.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste, exceto pela presença de micobactérias.

Identidade. Identificar as bactérias como *Mycobacterium bovis* BCG, utilizando-se técnicas microbiológicas e de biologia molecular, como amplificação de ácido nucléico.

Micobactérias virulentas. Cumpre o teste descrito para o produto final.

A bactéria é inoculada em meio de cultura apropriado, isento de substâncias que possam causar reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. Os cultivos e o meio de cultura de cada recipiente são examinados visualmente quanto ao aspecto, apresentando véu bacteriano na superfície e meio de cultura límpido. Os cultivos são transferidos para novo meio e, após crescimento, são testados quanto à esterilidade e avaliados visualmente quanto à transparência do meio e aspecto do véu bacteriano. Após a filtração do véu bacteriano, esse é ressuspendido em meio apropriado e submetido aos testes de respiração bacteriana, opacidade e esterilidade. A suspensão bacteriana é diluída para o número apropriado de doses e, antes de proceder ao envase, o produto é avaliado quanto ao número de unidades formadoras de colônias e esterilidade. O produto é envasado em ampolas ou frascos-ampola de vidro âmbar classe farmacêutica, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Observar por microscopia esfregaço obtido após a reconstituição da vacina e corado pela técnica de Ziehl-Nielsen. São detectados somente bacilos álcool-ácido resistentes. Como complemento, observar a morfologia das colônias semeadas no meio de Lowenstein-Jensen, utilizado no *ensaio microbiológico* (unidades formadoras de colônias). As colônias são rugosas, predominantemente espraiadas e não-pigmentadas. Alternativamente, podem ser utilizadas técnicas de biologia molecular.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar após a reconstituição da vacina com diluente apropriado. Os limites devem estar de acordo com o histórico do registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Micobactérias virulentas. Reconstituir o conteúdo das ampolas com o diluente recomendado, de forma a se obter 50 doses humanas. Inocular volume de 1 mL em cada uma de seis cobaias, pesando de 250 g a 400 g, por via subcutânea, na região abdominal, do lado direito. Manter os animais em observação por 42 dias. Ao final do período, pesar, sacrificar e necropsiar os animais. Examinar o local da inoculação, os gânglios regionais, inguinais, axilares, mediastínicos, lombares, portal e demais órgãos, em particular os pulmões, fígado, baço e rins.

Nenhuma cobaia pode apresentar evidência de tuberculose progressiva e, pelo menos, 2/3 dos animais têm que sobreviver ao final do período de observação, com ganho de peso. Repetir o teste se mais que 1/3 dos animais morrerem ou perderem peso. O ensaio pode ser omitido no produto final se foi obtido resultado satisfatório no produto a granel.

Reatividade cutânea. Reconstituir uma amostra e preparar diluições 1:10 e 1:100, utilizando o diluente recomendado. Inocular, por via intradérmica, 0,1 mL de cada uma das diluições no flanco esquerdo de quatro cobaias albinas de mesmo sexo, com peso mínimo de 350 g cada. Os animais têm que apresentar reação tuberculínica negativa, bem como não podem ter sofrido tratamento que possa dar falso negativo. Proceder conforme descrito para a vacina de referência, inoculando o mesmo animal no flanco direito. Observar os animais por quatro semanas e realizar leituras semanais do diâmetro das lesões encontradas nos pontos de inoculação. Ao final do período de observação, calcular, para cada diluição correspondente, a média das quatro leituras da vacina e da vacina de referência. A vacina cumpre o requisito se a reação produzida pela amostra é semelhante à da vacina de referência. O ensaio no produto final pode ser omitido se foi realizado no lote-semente de trabalho e em cinco lotes finais consecutivos derivados do mesmo lote-semente.

ENSAIO MICROBIOLÓGICO

Número de unidades formadoras de colônias (UFC)

Reconstituir cinco ampolas da vacina com diluente recomendado, tendo o cuidado de adicioná-lo suavemente para evitar a formação de espuma. Transferir o conteúdo das ampolas para um único tubo de ensaio, homogeneizar e proceder três diluições, de modo a obter número ótimo de colônias em torno de 40, desprezando as contagens superiores a 100. Inocular em meio Lowenstein-Jensen, utilizando cinco tubos para cada uma das duas diluições mais concentradas e 10 tubos para a mais diluída. Vedar os tubos e incubar na posição vertical à temperatura de 37 ºC, por quatro semanas. Analisar em paralelo uma amostra da vacina de referência e expressar os resultados em UFC/mL. A faixa de aceitação deve estar de acordo com o histórico do registro do produto submetido à autoridade regulatória nacional, sendo que o limite máximo não deve ultrapassar quatro vezes o limite definido como o mínimo.

Se for utilizada a bioluminescência ou qualquer outro método, o mesmo deve ser validado contra o método de contagem de viáveis.

TERMOESTABILIDADE

Incubar cinco ampolas da vacina à temperatura de 37 ºC por quatro semanas e proceder conforme *Ensaio microbiológico*. Comparar os resultados obtidos com os das amostras mantidas à temperatura de 2 ºC a 8 ºC. O número de UFC/mL não pode ser inferior a 20% de UFC/mL da vacina mantida entre 2 ºC e 8 ºC.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA CAXUMBA (ATENUADA)
Vaccinum parotiditis vivum

vacina caxumba (atenuada); 09037

A vacina caxumba (atenuada) é constituída de vírus vivos atenuados, apresentada sob a forma liofilizada. Após a reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de vírus utilizada ou cinco lotes consecutivos da vacina não podem induzir a neuropatogenia em macacos suscetíveis ao vírus da caxumba. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano. A replicação do vírus é realizada em cultura de células suscetíveis e a suspensão viral é identificada e controlada quanto à esterilidade. Após a clarificação da suspensão viral por método adequado, para remoção de resíduos celulares, são adicionadas algumas substâncias estabilizadoras, que comprovadamente não alteram a eficácia, nem a segurança do produto. Antes do envase e liofilização, o produto é analisado quanto à esterilidade, concentração de vírus e de proteínas derivadas de soro animal utilizado.

A vacina é envasada em recipientes adequados, liofilizada, rotulada e submetida aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e adicionar igual volume de soro, contendo anticorpos neutralizantes para o vírus da caxumba. Incubar a 36 °C por uma hora. Após a incubação, inocular a mistura em cultura de células suscetíveis e manter à temperatura de 36 °C por 10 dias. Utilizar como controle cultura de células inoculada com o vírus vacinal e outra não-inoculada, que apresentam, ao final do teste, presença e ausência de efeito citopatogênico, respectivamente. A ausência de ECP na cultura de células identifica o vírus vacinal.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano.* No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder à determinação ao abrigo da luz direta. Diluir duas amostras da vacina e uma amostra da vacina de referência a intervalos de, no mínimo, 1,0 $\log_{10}$, em meio de cultura adequado. Inocular

cada diluição em, pelo menos, 10 orifícios de microplaca contendo células Vero em suspensão e incubar à temperatura de 36 °C por 10 dias. Observar as culturas de células quanto à presença ou ausência de ECP e calcular o título da vacina por método estatístico comprovado. A potência da vacina é o valor da média geométrica dos frascos analisados, expressa em $CCID_{50}$ (dose 50% infectante em cultura de célula) por dose. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que: (a) ao final do ensaio o controle da cultura de células apresente monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as duas amostras da vacina seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$; (c) a variação do título da vacina de referência seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ do seu título médio; (d) o ECP seja decrescente em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

A potência da vacina é, no mínimo, 103,7 $CCID_{50}$/dose. Caso não cumpra o requisito, repetir a determinação. A potência da vacina é a média geométrica dos dois ensaios realizados.

Pode ser empregado, também, o método de unidades formadoras de "plaque" (UFP). O valor de potência para aprovação do produto tem que estar correlacionado com o de $CCID_{50}$.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo a *Doseamento*. Incubar uma amostra da vacina a 37 °C, por sete dias, e analisar conforme método descrito para a potência do produto. A vacina não pode perder mais que 1,0 $\log_{10}$ $CCID_{50}$/dose, em relação ao título da vacina conservada em condições adequadas de temperatura. Não pode, também, ter título inferior ao requisito de potência do produto.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA FEBRE AMARELA (ATENUADA)
Vaccinum febris flavae vivum

A vacina contra febre amarela é constituída de vírus vivos atenuados e apresentada sob a forma liofilizada. Após a reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente primário da estirpe 17D, do qual, por meio de passagens em ovos embrionados de galinha SPF (livre de micro-organismos contaminantes), se origina o lote-semente secundário.

Cada lote-semente primário de vírus deve ser submetido aos testes de identificação, agentes adventícios (esterilidade bacteriana e fúngica; micoplasmas e micobactérias), vírus da leucose aviária e inoculação em macacos para verificar viscerotropismo, imunogenicidade e neurotropismo.

Cada lote-semente secundário de vírus deve ser submetido aos testes de identificação, agentes adventícios (inoculação em cobaias e camundongos, esterilidade bacteriana e fúngica, micoplasmas e micobactérias, cultivo celular e vírus aviários), vírus da leucose aviária e inoculação em macacos para verificar viscerotropismo, imunogenicidade e neurotropismo.

A replicação do vírus é realizada em ovos embrionados de galinha, livre de patógenos específicos, ou em cultura de células suscetíveis. Se a produção da vacina ocorrer em ovos embrionados, 2% e, no mínimo, 20 ovos não infectados com a cepa vacinal têm que demonstrar ausência de patógenos específicos para aves.

A suspensão viral é clarificada por método adequado para remoção de resíduos celulares e algumas substâncias estabilizadoras que, comprovadamente, não alteram a eficácia e segurança do produto, podem ser adicionadas. Nenhuma proteína de origem humana pode ser adicionada em qualquer etapa de produção. A suspensão viral ou a mistura de suspensões virais individuais são testadas quanto à identificação, esterilidade bacteriana e fúngica, micoplasmas, micobactérias e concentração viral.

Testes em cultura de células para outros agentes adventícios. Inocular 5 mL da amostra dos extratos dos ovos controles em culturas de células de rim de macaco e em fibroblastos de embrião de galinha. Incubar as células em temperatura entre 35 °C e 37º C e observar por 14 dias. Não deve ser evidenciada a presença de quaisquer agentes adventícios e, no mínimo, 80% das culturas celulares devem permanecer viáveis.

Vírus aviários. Inocular 0,1 mL dos extratos dos ovos controles pela via alantoica em cada um de 10 ovos SPF embrionados de 9 a 10 dias. Proceder da mesma forma, inoculando no saco vitelino, 10 ovos SPF embrionados de cinco a sete dias. Ao final de sete dias de incubação, pelo menos 80% dos ovos inoculados devem permanecer viáveis, assim como não devem ser evidenciados agentes hemaglutinantes e/ou patologias macroscópicas típicas nos embriões e membranas cório-alantoicas.

Após a formulação, o produto acabado a granel é analisado quanto à esterilidade; concentração de vírus e nitrogênio proteico.

Conteúdo de nitrogênio proteico (5.3.3.2). No máximo, 0,25 mg por dose, antes da adição de qualquer estabilizante.

O produto é envasado em recipiente adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano.*

IDENTIFICAÇÃO

A vacina, quando neutralizada com soro contendo anticorpo específico para o vírus da febre amarela, inibe a formação de unidades formadoras de "plaque" UFP em células suscetíveis conforme descrito em *Doseamento*. Métodos moleculares como, sequenciamento e amplificação de ácido nucleico, podem ser utilizados.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. O limite máximo deve garantir que o produto mantenha sua estabilidade, de acordo com o registro submetido à autoridade regulatória nacional.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 5 UE por dose humana.

Ovoalbumina residual. Determinar o teor de ovoalbumina por *Método imunoquímico* **(5.6)** adequado, utilizando como referência uma preparação padrão de ovoalbumina. A vacina é considerada satisfatória se o conteúdo de ovoalbumina residual for menor ou igual a 5 μg/dose.

DOSEAMENTO

Uma vacina de referência calibrada em Unidades Internacionais (UI) deve ser utilizada para a determinação do título do inóculo viral e no ensaio de potência da vacina.

Pelo menos três frascos de vacina liofilizada e um de vacina referência são submetidos ao método de unidades formadoras de "plaque" (UFP). Diluir a vacina aplicando-se fator 4 e inocular pelo menos duas diluições em, no mínimo, três orifícios em placa de seis orifícios contendo monocamada de células Vero previamente semeadas. A concentração da linhagem celular pode variar de 100 000 a 300 000 células por mL, conforme o dia de sua utilização. Após adsorção por período de até 90 minutos à temperatura entre 35 °C e 37 °C, em ambiente de CO_2 a 5%, adicionar um meio de cultura contendo agarose ou carboximetilcelulose em concentração adequada. Incubar as placas por cinco a sete dias, à temperatura entre 35 °C e 37°C, em ambiente de CO_2 a 5%. Após o período de incubação, retirar o meio de crescimento, fixar as células com formaldeído e corar com um corante vital.

Calcular a média do número de "plaques" dos frascos da vacina em teste e da vacina de referência, por meio de métodos estatísticos comprovados. Comparar a concentração viral da vacina em teste com aquela da vacina de referência e expressar o resultado em Unidades Internacionais (UI) por dose. A potência mínima deve ser de 3,0 $\log_{10}$ UI por dose. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que**:** (a) no controle de cultura de células haja monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as três amostras da vacina seja no máximo 0,3 $\log_{10}$ UI; (c) a potência da vacina de

referência varie no máximo 0,5 $\log_{10}$ UI do seu título estabelecido (d) o número de UFP seja decrescente em relação às diluições crescentes. O ensaio deve ser repetido se não cumprir os requisitos. Outros métodos de ensaio podem ser utilizados, desde que justificados e aprovados pelas autoridades regulatórias nacionais. No entanto, caso a vacina seja dosada pelo método descrito acima, deve cumprir com os requisitos já estabelecidos.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar, pelo menos, dois frascos de vacina por 14 dias entre 36 °C e 38 ºC e analisar conforme descrito em *Doseamento.* A vacina pode perder no máximo 1 $\log_{10}$ UI em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura. Além disso, ter título no mínimo igual ao especificado para a potência do produto. Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA HAEMOPHILUS INFLUENZAE B (CONJUGADA)

Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum

A vacina *Haemophilus influenzae* b (conjugada) é uma preparação líquida ou liofilizada de polissacarídeo capsular, obtido a partir de uma cepa de *Haemophilus influenzae* tipo b, covalentemente ligado a uma proteína carreadora.

O polissacarídeo de ribosil-ribitol-5-fosfato (PRP) é um polímero composto de unidades alternadas de ribose e ribitol, covalentemente agrupadas por um fosfato por meio de ligações de fosfatodiéster. A proteína carreadora, quando conjugada ao polissacarídeo, é capaz de induzir uma resposta imunológica dependente de célula-T.

A produção do polissacarídeo tipo B é baseada no sistema de lote semente, que é uma quantidade de ampolas contendo *H. influenzae* tipo b liofilizado, de composição uniforme, obtido a partir de uma cepa liofilizada de procedência conhecida. Os meios de cultura utilizados para preservar a viabilidade da cepa liofilizada, ou congelada, não devem ser constituídos de proteínas de origem animal. É recomendado que o PRP produzido pelo lote semente seja caracterizado por espectrometria de ressonância magnética nuclear.

O micro-organismo *H. influenzae* tipo b é cultivado em um meio líquido, adequado que não contém polissacarídeos de alto peso molecular. Se algum componente do meio contiver substâncias originárias do sangue, o processo deve ser validado para comprovar que após a purificação elas não são detectadas. Ao final do cultivo verifica-se a pureza da cultura por exame microscópico, inoculação da amostra em meios de cultivo adequados e aglutinação da cultura com antissoro específico. A cultura pode ser inativada. O PRP é separado do meio de cultivo e purificado por um método adequado.

POLISSACARÍDEO HAEMOPHILUS INFLUENZAE (PRP)

O polissacarídeo purificado somente pode ser utilizado na preparação do conjugado se cumprir os seguintes requisitos.

Identificação. O PRP é identificado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** ou outro método validado, como espectrometria por ressonância magnética nuclear.

Umidade. O teor de umidade do polissacarídeo é determinado por análise termogravimétrica em balança de lâmpada halógena. A perda de peso é determinada em uma amostra seca a 60 °C durante 60 minutos. Transferir 120 mg da amostra para naveta, programar o analisador de umidade e, após o término da análise, transferir quantitativamente a amostra para um balão volumétrico de 10 mL e adicionar água ultrapurificada.

Distribuição por tamanho molecular. Corresponde a porcentagem de PRP, eluído antes de um dado valor de coeficiente de distribuição (Kd) ou dentro de uma faixa de valores de Kd. A distribuição das dimensões moleculares do PRP pode ser determinada por *Cromatografia líquida de alta eficiência* **(5.2.17.4)** de exclusão por tamanho. O método é realizado usando-se coluna de gel filtração de 300 x 7,8 mm para partículas de 10 µm, com fluxo de *Fase móvel* de 0,3 mL/minuto. As colunas são mantidas a uma temperatura constante de 25 °C. A eluição é monitorada usando-se um detector refractométrico para análise de PRP.

Fase móvel: preparar solução de cloreto de sódio 0,2 *M* e trometamina 0,01 *M*. Homogeneizar e, se necessário, ajustar para o pH 7,0. Filtrar num filtro de membrana de 0,45 µm antes do uso.

Solução de PRP: preparar solução de PRP a 4 mg/mL em *Fase móvel*.

Injetar 100 µL de amostras da solução de polissacarídeo a cada 60 minutos.

Para análise dos dados, é necessária a determinação do volume de exclusão total (V_0) e do volume de inclusão total (Vt). O V_0 e o Vt são determinados, respectivamente, com dextrana com peso molecular próximo a Kd = 0,3 e azida sódica.

Os polissacarídeos contêm uma fração de alto peso molecular eluindo no volume morto. O volume de eluição desses polissacarídeos de alto peso molecular, também, pode ser usado para determinar o volume morto da coluna. Na determinação da distribuição de peso molecular, o valor de Kd é determinado pela equação:

$$Kd = \frac{Ve - Vo}{Vt - Vo} \qquad \text{ou} \qquad Kd = \frac{Rt(Ve) - Rt(Vo)}{Rt(Vt) - Rt(Vo)}$$

em que

Rt (Ve) = tempo de retenção do polissacarídeo analisado;
Rt (Vo) = tempo de retenção de Vo;
Rt (Vt) = tempo de retenção de Vt.

Para calcular a quantidade de polissacarídeo eluído a um Kd ≤ 0,30, o volume de eluição correspondente a um Kd = 0,30 é determinado segundo a expressão:

$$\text{Ve} = [3{,}0(\text{Vt} - \text{Vo})] + \text{Vo}$$

Com o valor de Ve, a porcentagem de polissacarídeo eluído a Kd ≤ 0,30 é então determinada marcando esse valor no cromatograma e integrando a área do pico até esse ponto.

Um valor aceitável é estabelecido, especificamente, para o produto e cada partida de PRP deve cumprir com esse limite. Os limites para produtos aprovados, utilizando as fases estacionárias indicadas, são registrados, para informação, na **Tabela 1**.

O método de *Cromatografia líquida* **(5.2.17.4)** de detecção por espalhamento de luz também pode ser utilizado.

Outros métodos validados, como determinação do grau de polimerização ou do peso molecular médio e a dispersão das massas moleculares, podem substituir o teste para *Distribuição por tamanho molecular* descrito.

Concentração de PRP. A concentração de PRP é determinada por *Método imunoquímico* **(5.6)**, *Cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada* **(5.2.17.3)** ou Ribose por espectrofotometria (Orcinol). Se for utilizado o teor de ribose, proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**.

Solução padrão de D-ribose: diluir *D*-ribose em água destilada para a obtenção de uma solução a 25 µg/mL. Distribuir e armazenar as alíquotas a -20 °C.

Solução A: pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de cloreto de ferro hexa-hidratado e dissolver em 100 mL de ácido clorídrico concentrado.

Reagente de orcinol: pesar 375 mg de orcinol monoidratado e dissolver em 5 mL de álcool etílico a

96% (v/v). Adicionar à *Solução A* na proporção de 1:20 e homogeneizar.

O polissacarídeo Hib é um polímero de ribosil-ribitol-5-fosfato e pode ser quantificado medindo-se o teor de ribose. A determinação do teor de ribose baseia-se na medição espectrofotométrica da absorvância de um complexo de coloração verde, formado pela reação entre o *Reagente de orcinol* e a ribose nas subunidades do polímero. Dentro da faixa da análise, a absorvância é proporcional à concentração de ribose. Para a curva analítica, pipetar, para cada um de 5 tubos de ensaio, 0 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL e 400 µL de *Solução padrão de D-ribose*. Adicionar água destilada a cada um dos tubos até 400 µL. Para a análise, dissolver o polissacarídeo purificado para 0,05 mg/mL em água destilada e pipetar 400 µL da solução amostra para os tubos. Adicionar a cada tubo 800 µL de *Reagente de orcinol* e colocá-los a 100 °C por 20 minutos. Deixar esfriar à temperatura ambiente e ler a absorbância a 669 nm. Os teores de ribose das amostras obtidas da curva analítica são expressos em microgramas de ribose por mililitro *versus* a massa do polissacarídeo seco. Calcular o porcentual (p/p) de D-ribose de acordo com a expressão:

$$\%\,\text{D - ribose} = \frac{\text{massa de D - ribose (µg) obtida da curva padrão}}{\text{massa de polissacarídeo (µg)}}\ \text{x}\ 100$$

O limite mínimo deve estar de acordo com o registro do produto aprovado pela autoridade regulatória nacional.

Fósforo. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. O método pode ser baseado na medida espectrofotométrica da absorbância da coloração azul formada pela redução de um complexo fosfomolíbdico pelo ácido ascórbico.

Solução padrão: dissolver 109,7 mg de fosfato de potássio monobásico em 250 mL de água destilada. Diluir 5 mL da solução anterior para 100 mL com água destilada.

Solução A: pesar 2,5 g de molibdato de amônio e adicionar 100 mL de água destilada.

Solução B: no momento do uso, pesar 10 g de ácido ascórbico e adicionar 100 mL de água destilada.

Solução C (Complexo fosfomolíbdico e ácido ascórbico): no momento do uso, misturar as soluções na seguinte ordem: 1 volume de ácido sulfúrico 3 *M*, 1 volume de *Solução A*, 2 volumes de água destilada e 1 volume de *Solução B*.

Reativo de mineralização: 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 5 mL de ácido perclórico a 70% (p/p).

Dissolver 25 mg de polissacarídeo purificado em água destilada, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Para a mineralização, pipetar 100 µL dessa solução, transferir para um tubo de ensaio e adicionar 100 µL de *Reativo de mineralização*. O teste é realizado em triplicata. Aquecer a 250 °C até que haja descoloração completa (quatro horas). O branco (1 mL de água destilada) e as soluções padrão (0,5 mL, 1,0 mL, 1,5 mL e 2,0 mL de *Solução padrão*) são tratados de forma idêntica. Para o desenvolvimento de coloração, após esfriar cada tubo, adicionar 4 mL de *Solução C*. Aquecer o conteúdo dos tubos a 37 °C por 120 minutos para desenvolver uma coloração azul do complexo fosfomolíbdico. Medir a absorvância das soluções amostras e padrões a 825 nm utilizando o branco como célula de referência. O teor de fósforo da amostra é determinado utilizando-se uma curva de calibração estabelecida a partir dos valores obtidos para as soluções padrão. Calcular o porcentual de fósforo por meio da fórmula:

$$\%\ \text{de fósforo} = \frac{\text{concentração da amostra obtida na curva padrão } (\mu g/\text{tubo})}{0{,}1 \times \text{concentração da amostra } (\mu g \text{ de polissacarídeo seco/mL})} \text{ x } 100$$

Os limites devem estar de acordo com o registro do produto aprovado pela autoridade regulatória nacional.

Proteína. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. O ensaio sugerido é baseado no método de Lowry, em que há desenvolvimento da coloração azul do quelato de cobre em presença de proteínas.

Solução estoque padrão de albumina de soro bovino: pesar 20 mg de albumina bovina (BSA) e completar para 100 mL com água destilada.

Solução alcalina de cobre: misturar 0,5 mL de tartarato de sódio e potássio a 2% (p/v) em água destilada, com 0,5 mL de sulfato cúprico penta-hidratado a 1% (p/v) em água destilada. Ajustar para 50 mL com carbonato de sódio a 2% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 *M*.

Reagente Folin diluído: misturar 50 mL de reagente fosfomolibdotúngstico (reagente de Folin-Ciocalteau-fenol) com 50 mL de água destilada. Essa solução tem de ser preparada no momento do uso.

Em tubos de ensaio adicionar 0 µL, 10 µL, 25 µL, 50 µL 100 µL e 200 µL da *Solução estoque padrão de albumina de soro bovino*. Ajustar o volume em cada tubo para 200 µL com água destilada. Se necessário, diluir as amostras contendo cerca de 10 mg/mL de polissacarídeo dessecado e adicionar 200 µL em cada tubo. Adicionar 200 µL de água destilada como solução branco. Adicionar aos tubos de soluções padrão, branco e amostra na seguinte ordem: 1 mL de *Solução alcalina de cobre*, misturar e deixar reagir por 10 minutos; 100 µL de *Reagente Folin diluído*, misturando imediatamente. Após 30 minutos, as soluções são centrifugadas e as absorvâncias das soluções padrão e das soluções amostra são medidas a 750 nm. A concentração de proteína na amostra é expressa como microgramas por mililitro. Calcular a porcentagem de proteína de acordo com a expressão:

$$\%\ \text{de proteína} = \frac{\text{concentração obtida da curva padrão } (\mu g/\text{tubo})}{\text{concentração da amostra } (\mu g \text{ de polissacarídeo seco/mL})} \text{ x } 100$$

No máximo 1% (p/p), calculado em relação à base seca.

Ácido nucleico. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no ultravioleta* **(5.2.14)**. O ácido nucleico residual de uma amostra contendo pelo menos 1 mg/mL de polissacarídeo dessecado é medido por espectrofotometria de absorção no ultravioleta em 260 nm. A absorvância de uma solução de ácido nucleico aquoso a 10 g/L em uma célula espectrofotométrica de 1 cm de largura a 260 nm é de 200.

$$\%\ \text{de ácido nucleico} = \frac{\text{leitura da amostra} \times 50}{\text{massa de polissacarídeo seco (mg)}} \text{ x } 100$$

No máximo 1% (p/p), calculado em relação à base seca.

Reagentes residuais. Quando for relevante, devem ser realizados testes para determinar resíduos de reagentes utilizados durante a inativação e purificação. Um valor aceitável para cada reagente é estabelecido especificamente para o produto e cada partida de PRP deve cumprir com esse limite.

Caso os métodos para remoção de um reagente residual tenham sido validados, o teste no PRP pode ser omitido.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 10 UE/μg de PRP.

PROTEÍNA CARREADORA

A proteína carreadora, quando conjugada ao PRP, deve ser capaz de induzir uma atividade imunogênica adequada. As proteínas são produzidas por meio da cultura dos respectivos microrganismos, na qual é verificada a pureza bacteriana. O cultivo pode ser inativado e a proteína é purificada por métodos adequados. As proteínas aprovadas e seus respectivos métodos de conjugação são informados na **Tabela 1**.

Componente diftérico. A anatoxina diftérica é produzida como descrito na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*. Cumpre com os requisitos para anatoxina diftérica purificada, exceto para o teste de esterilidade, o qual não é requerido.

Componente tetânico. A anatoxina tetânica é produzida como descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. Cumpre com os requisitos para anatoxina tetânica purificada, exceto para o teste de esterilidade, o qual não é requerido.

Proteína diftérica CRM 197. Contém, no mínimo, 90% de proteína diftérica CRM 197, determinada por um método adequado. Alguns testes devem ser realizados, para validação ou rotineiramente, para demonstrar ausência de toxicidade no produto.

A proteína a ser utilizada na conjugação deve cumprir com os seguintes requisitos.

No caso de se utilizar como proteína carreadora o complexo proteico da membrana externa de *Neisseria meningitidis* grupo B (OMP), proceder ao teste de *Pirogênios* **(5.5.2.1).** Injetar em cada coelho 0,25 μg de OMP por quilograma de peso corpóreo.

Tabela 1 – Características do produto e especificações para o PRP e proteína carreadora.

Carreador			***Polissacarídeo Haemophilus***		***Conjugação***	
Tipo	***Pureza***	***Quantidade nominal por dose***	***Tipo de PRP***	***Quantidade nominal por dose***	***Método de conjugação***	***Procedimento***
Anatoxina Diftérica	Maior do que 1500 Lf /mg de nitrogênio	18 μg	PRP de peso reduzido Kd:0,6-0,7	25 μg	Ativação do PRP por brometo de cianogênio	Anatoxina diftérica ativada (D-AH^+), ativação do PRP por brometo de cianogênio
Anatoxina Tetânica	Maior do que 1500 Lf /mg de nitrogênio	20 μg	PRP ≥ 50% Kd ≤ 0,30	10 μg	Mediada por carbodiimida	PRP ativado-HA (PRP-cov.-HA) + Anatoxina Tetânica + EDAC
Proteína Diftérica CRM 197	Maior do que 90% de proteína diftérica	25 μg	PRP de peso reduzido Dp=15-35 ou 10-35	10 μg	Aminação redutora (método de 1 passo) ou ativação	Conjugação direta do PRP com a proteína CRM 197

					por N-hidroxisuccinimida	ativação cianoborohidrida
Membrana proteica externa de Meningococos grupo B (OMP)	Vesículas proteicas da membrana externa: ≤ 8% de lipopolissacarídeo	125 µg ou 250 µg	PRP de peso reduzido Kd ≤ 0,6, usando agarose de ligação cruzada para cromatografia R ou M_w > 50 x 10^3	7,5 ou 15 µg	Ligação tioéter	Ativação do PRP por CDI PRP-IM + BuA2 + BrAc = PRP-BuA2-BrAc + OMP tioativada

O PRP é modificado quimicamente para possibilitar a conjugação, sendo parcialmente despolimerizado antes ou após o procedimento. Antes da conjugação, grupos funcionais ativos podem ser introduzidos na proteína ou no PRP. Para determinar a consistência, a extensão da derivação é monitorada nessa etapa da produção. O conjugado é obtido pela ligação covalente de PRP e proteína. Os grupos funcionais residuais não reativos, mas potencialmente reatogênicos, podem estar presentes após o processo de conjugação. O processo deve ser validado para comprovar que grupos funcionais reativos não permanecem após a produção. O conjugado é então purificado para remoção de reagentes e submetido aos controles relacionados a seguir. Os limites aplicados para alguns desses controles estão listados na **Tabela 2**. Para uma vacina liofilizada, que é submetida ao processo de liofilização que pode afetar o componente a ser analisado, alguns testes podem ser realizados no lote final.

Concentração de PRP. A concentração de PRP é determinada por *Método imunoquímico* **(5.6)**, *Cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada* **(5.2.17.3)** ou *Ribose*. Quando o teor de polissacarídeo for determinado pela concentração de ribose, proceder conforme descrito em *Concentração de PRP*, em *Polissacarídeo Haemophilus influenzae (PRP)*. O teor de polissacarídeo é calculado multiplicando-se o teor de ribose, expresso em micrograma por mililitro, pelo fator 2,488.

Proteína livre. A concentração pode ser determinada diretamente por um método adequado ou por derivação, por meio do cálculo dos resultados de outros testes. O valor deve estar dentro dos limites aprovados para o produto.

Proteína. Proceder conforme descrito em *Proteína*, em *Polissacarídeo Haemophilus influenzae (PRP)*. O resultado é calculado em microgramas por mililitro.

Razão polissacarídeo/proteína. Quociente entre concentração de polissacarídeo e concentração proteica. Para cada conjugado, a relação deve estar de acordo com a faixa aprovada no registro do produto aprovado pela autoridade regulatória nacional.

Reagentes residuais. A remoção de reagentes residuais tais como**:** cianeto**,** EDAC (etildimetilaminopropilcarbodiimida) e fenol, é confirmada por testes adequados ou por validação do processo.

Distribuição por tamanho molecular. Proceder conforme descrito em *Distribuição por tamanho molecular*, em *Polissacarídeo Haemophilus influenzae (PRP)*.

Para calcular a quantidade do conjugado eluído a um Kd ≤ 0,20, o volume de eluição correspondente a um Kd = 0,20 é determinado segundo a expressão:

$$Ve = [0{,}2(Vt - Vo)] + Vo$$

Com o valor de Ve, a porcentagem de polissacarídeo eluído a Kd ≤ 0,20 é então determinada, marcando esse valor no cromatograma e integrando a área do pico até esse ponto.

Para o conjugado, o valor aceitável deve estar de acordo com o registro do produto aprovado pela autoridade regulatória nacional.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar para cada meio de cultivo 10 mL ou o equivalente a 100 doses, o que for menor.

Tabela 2 – Requisitos para o conjugado a granel.

Teste	***Proteína carreadora***			
	Anatoxina diftérica	***Anatoxina tetânica***	***Proteína diftérica CRM 197***	***Membrana proteica externa de Meningococo grupo B (OMP)***
PRP livre	< 37%	< 20%	< 25%	< 15%
Proteína livre	< 4%	< 1%	< 1% ou < 2%, dependendo do método de conjugação	Não aplicável
Razão PRP/ Proteína	1,25 – 1,8	0,30 – 0,6	0,3 – 0,7	0,05 – 0,1
Peso molecular (Kd): agarose de ligação cruzada para cromatografia	95% < 0,75	≥ 80% para Kd≤ 0,20 60% < 0,2		
agarose de ligação cruzada para cromatografia	0,6 – 0,7	85% < 0,5	50% 0,3 – 0,6	85% < 0,3

No preparo da vacina, produto acabado a granel, pode ser adicionado um adjuvante, um conservante antimicrobiano e um estabilizador, antes da diluição final com diluente adequado. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles a seguir.

Timerosal. Quando aplicável, proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

O produto é envasado em recipientes adequados e, se for o caso, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste deve ser realizado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** aprovado, utilizando anticorpos específicos para o polissacarídeo purificado.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina ou, no caso do componente liofilizado, o pH deve ser determinado após a reconstituição com o diluente adequado. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3,0%.

Concentração de Polissacarídeo. A concentração de PRP é determinada por *Método imunoquímico* **(5.6)**, *Cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada* **(5.2.17.3)** ou Ribose por espectrofotometria (Orcinol). Se for utilizado o teor de ribose, proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Para vacina liofilizada, dissolver o conteúdo de 20 frascos em cerca de 4 mL de água destilada e remover a lactose por diálise. Diluir o líquido dialisado residual a 10 mL com água destilada e determinar o teor de ribose da vacina conforme descrito em *Concentração de PRP*, em *Polissacarídeo Haemophilus influenzae (PRP)*. O teor de PRP da vacina é calculado multiplicando-se o teor de ribose, expresso como micrograma por mililitro, por 2,488 e é, no mínimo, 80% da concentração declarada no rótulo.

Distribuição por tamanho molecular. É a porcentagem de PRP, eluído antes de um dado valor Kd ou dentro de uma faixa de valores Kd, determinada por *Cromatografia líquida de alta eficiência* **(5.2.17.4)** de exclusão por tamanho, conforme descrito em *Distribuição por tamanho molecular*, para o *Polissacarídeo Haemophilus influenzae (PRP)*. Para um lote de vacina, uma amostra de 5 doses da vacina é diluída em 2,5 mL de *Fase móvel*. Um valor aceitável é estabelecido, especificamente, para o produto e cada lote de vacina deve cumprir com esse limite. Os limites para produtos aprovados, utilizando as fases estacionárias indicadas, são listados, para informação, na **Tabela 2**.

Polissacarídeo livre. No máximo 20%. A concentração de PRP livre é determinada após a remoção do conjugado por formação de um complexo PRP-proteína carreadora-anticorpo ou por outros métodos validados. Verificar no sobrenadante, por *Método imunoquímico* **(5.6)**, o teor de polissacarídeo de Hib e a ausência de conjugado. Calcular a porcentagem de polissacarídeos livres na vacina segundo a expressão:

$$\%\ \text{de PRP livre} = \frac{\text{teor de PRP do sobrenadante}}{\text{teor total de PRP da vacina}} \text{ x } 100$$

Timerosal. Quando aplicável, proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 25 UE/dose. Caso a vacina contenha algum componente que possa interferir no ensaio, deve ser realizado o teste de *Pirogênios* **(5.5.2.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA HEPATITE B (RECOMBINANTE)
Vaccinum hepatitidis B ADN recombinatum

A vacina contra hepatite B recombinante é uma suspensão de antígeno (HBsAg) purificado da superfície do vírus da hepatite B, adsorvido pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter conservante. Está, também, presente o gene S ou combinação dos genes S e pré-S2 ou dos genes S, pré-S2 e pré-S1. Tem o aspecto de suspensão opalescente que não apresenta grumos ou partículas estranhas.

A vacina é produzida pela expressão do gene viral codificado para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) em cepa recombinante de leveduras ou em cultura de células suscetíveis. O antígeno produzido cumpre os testes de esterilidade, retenção de plasmídio e consistência antigênica. No caso de utilização de cultura de células de mamíferos, o antígeno produzido tem que demonstrar ausência de micoplasmas e vírus. Além disso, as células (célula hospedeira em combinação com o vetor de expressão do antígeno) utilizadas na produção são necessariamente procedentes de banco de células aprovado pela autoridade regulatória nacional.

O antígeno de superfície recombinante (HBsAg) é purificado por vários métodos físico-químicos e formulado em gel de hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio. Os controles citados a seguir são pré-requisitos para a formulação da vacina.

ADN residual. No máximo 100 pg/dose individual humana.

Proteínas. Determinadas por método apropriado.

Concentração antigênica. Avaliada por método imunoquímico validado.

Identificação. Avaliada por método imunoquímico validado.

Pureza. Determinada por comparação com vacina de referência utilizando método adequado como cromatografia líquida ou SDS-PAGE. Apresenta, no mínimo, 95% de proteínas do antígeno de superfície do vírus da hepatite B.

Íons inorgânicos. Os resíduos de íons inorgânicos, provenientes de sais utilizados no processo de produção, são determinados por métodos adequados.

Esterilidade. Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Soro animal. Se é utilizado soro de origem animal nos processos de produção, o resíduo de soro não é superior a 1 µL/L de vacina.

Outros componentes. Proteínas, lipídeos, ácido nucleico e carboidratos, também são determinados.

Antes do envase o produto é submetido a controles de adjuvante, conservante e esterilidade.

A vacina é envasada em recipientes adequados, rotulada e submetida aos controles requeridos.

Outras informações relativas à produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

O *Doseamento* pode ser utilizado.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 10 UE/mL.

DOSEAMENTO

Preparar, no mínimo, três diluições da vacina e de uma vacina de referência em solução isotônica de cloreto de sódio, contendo o adjuvante de alumínio utilizado na vacina. Cada diluição é inoculada por via intraperitoneal, em pelo menos, 10 camundongos BALB/c de haplotipo H-2^{q} ou H-2^{d}. Um grupo de animais é inoculado somente com o diluente. Os animais utilizados devem ter o mesmo sexo. Após quatro a seis semanas da inoculação, anestesiar e sangrar todos os animais. Separar individualmente os soros e determinar a presença de anticorpos para o vírus da hepatite B por método imunoenzimático. Registrar o número de animais que demonstram soroconversão em cada diluição e calcular a DE_{50} (dose efetiva 50%), assim como a potência relativa por um método estatístico adequado. O ensaio é considerado válido se (a) a DE_{50} encontrada estiver entre a menor e a maior concentração de vacina inoculada nos camundongos; (b) a análise estatística não demonstrar desvio de linearidade e paralelismo; (c) o limite de confiança da potência relativa estiver entre 30% e 300%.

O limite de confiança superior da potência relativa é, no mínimo, 1.

Métodos *in vitro* validados, tais como ensaio imunoenzimático e radio-imunoensaio, utilizando anticorpos monoclonais específicos para antígeno HBsAg, também podem ser utilizados.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA INFLUENZA (ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE, INATIVADA)

Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum

A vacina influenza (antígeno de superfície, inativada) é uma suspensão de antígenos do vírus da gripe composta por diferentes cepas do vírus *influenza*, fracionado e purificado, cuja composição é atualizada a cada ano. É apresentada como suspensão aquosa homogênea e levemente opalescente se estiver adicionada de um adjuvante.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) avalia mundialmente as evidências epidemiológicas da influenza e recomenda as cepas que devem compor a vacina.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente primário, do qual se origina o lote-semente secundário ou de trabalho por meio de passagens em ovos embrionados de galinha SPF (livre de micro-organismos contaminantes) ou em células suscetíveis. O lote de trabalho deve ser avaliado quanto à esterilidade e micoplasmas. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano.

A replicação do vírus pode ser realizada por inoculação na cavidade alantoide de ovos embrionados de galinha, livre de patógenos específicos, ou em cultura de células suscetíveis, provenientes de uma criação reconhecidamente sadia. Se a produção da vacina ocorrer em ovos embrionados, 2% e no mínimo 20 ovos são separados para controle. Ao final da produção da vacina, esses ovos não-infectados com a cepa vacinal têm que demonstrar ausência de patógenos específicos para aves.

O líquido alantoide é recolhido dos ovos após um período de incubação a uma temperatura que favoreça a replicação de cada cepa viral. As suspensões de cada tipo de vírus são coletadas e processadas separadamente. Em seguida, elas são tratadas por um processo de reconhecida eficácia que permita inativar o vírus sem alterar sua imunogenicidade.

As partículas virais são purificadas por centrifugação ou outro processo estabelecido e fragmentadas em subunidades por meio de procedimentos aprovados. Posteriormente, devem ser submetidas a uma purificação complementar e a suspensão monovalente resultante pode conter um agente antimicrobiano adequado.

As suspensões monovalentes são submetidas aos controles requeridos antes de ser preparado o produto a granel.

Inativação viral. Proceder conforme descrito em *Inativação viral*, em *Ensaios de segurança biológica*.

Antígeno hemaglutinina. A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples* **(5.6)**.

Antígeno neuraminidase. Detectar o tipo de antígeno neuraminidase por métodos enzimáticos ou imunológicos.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Agentes de fragmentação e purificação. Realizar determinação da concentração residual dos agentes de fragmentação e purificação utilizados, por meio de método adequado e validado. O limite máximo deve ser aprovado pela autoridade regulatória nacional no registro do produto.

Pureza. Utilizar *Eletroforese em gel de poliacrilamida*, conforme descrito em *Eletroforese* **(5.2.22)**, ou outro método aprovado. Devem ser detectados predominantemente antígenos de hemaglutinina e neuraminidase.

Quantidades estabelecidas dos produtos monovalentes são misturadas de modo a originar o produto acabado a granel, que só poderá ser envasado quando aprovado nos testes de controle de qualidade.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia *Vacinas para uso humano.*

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Imunodifusão radial simples* **(5.6)** ou em outro *Método imunoquímico* **(5.6)**, utilizando soros específicos dos componentes virais.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Cumpre o teste. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proteína total (5.3.3.2). Cumpre o teste. No máximo 40 µg por cepa viral e 120 µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia *Vacinas para uso humano*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Agente de inativação. Realizar determinação da concentração residual do agente de inativação viral por meio de método adequado e validado. Se forem utilizadas soluções de formaldeído ou betapropiolactona, os limites máximos devem ser de, respectivamente, 200 ppm e 0,1% (v/v). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Adjuvante. Determinar o teor da substância utilizada como adjuvante por método validado e aprovado pela autoridade regulatória nacional. A concentração deve estar na faixa que demonstrou ser efetiva em estudos clínicos. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 100 UE por dose humana.

Ovoalbumina. Determinar o teor de ovoalbumina por *Método imunoquímico* **(5.6)** adequado, utilizando como referência uma preparação padrão de ovoalbumina. No máximo 1µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes dos envase.

Inativação viral. Inocular 0,2 mL da amostra na cavidade alantoide de cada um de, pelo menos, 10 ovos embrionados de galinha. Após incubação à temperatura 33-37 °C por três dias devem sobreviver pelo menos 80% dos embriões. Coletar de cada ovo contendo embrião sobrevivente cerca de 1,0 mL de líquido alantoide e misturá-los. Inocular 0,2 mL da mistura em cada um de 10 ovos embrionados e incubar a 33-37 °C por três dias. Coletar cerca de 1 mL do líquido alantoide de cada ovo e realizar individualmente um teste de hemaglutinação para detectar hemaglutininas decorrentes de crescimento viral. Não deve haver reação positiva no líquido alantoide em qualquer uma das séries de diluição.

DOSEAMENTO

Conteúdo de hemaglutinina

A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples* **(5.6)**.

Preparar um gel de ágar a 1% (p/v) contendo soro anti-hemaglutinina específico para a cepa em teste e distribuir 27 mL em uma placa de vidro ou em filme plástico com superfície hidrofílica de 12 cm x 12 cm. Após pelo menos duas horas à temperatura de 2 °C a 8 ºC em câmara úmida, perfurar no gel 49 cavidades equidistantes de 4 mm de diâmetro.

Tratar a amostra em teste e a hemaglutinina de referência com detergente zwiteriônico, sob agitação, por 30 minutos. Preparar uma série de três diluições, em triplicata, da hemaglutinina de referência e da amostra em teste. Preencher aleatoriamente os orifícios com 20 µL das soluções de antígeno e da amostra em teste. Incubar em câmara úmida à temperatura de 20 ºC a 25 ºC por 16 a 20 horas, sobre uma superfície perfeitamente nivelada. Lavar com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) e secar as placas. Proceder à coloração com azul de Coomassie a 0,15% (p/v) ou com outro corante adequado. Medir os diâmetros perpendiculares dos halos de precipitação para cada um dos orifícios com o auxílio de lupa graduada ou outro método adequado. Calcular o teor de hemaglutinina pela comparação entre as curvas do diâmetro médio para cada diluição da amostra em teste e do antígeno de referência, utilizando método de regressão múltipla ou outro método estatístico adequado. No mínimo, 15 µg.

O teste será considerado válido se o intervalo de confiança (P = 0,95) estiver compreendido entre 80 e 125% da concentração de hemaglutinina estimada para cada cepa. O limite inferior do intervalo de confiança (P = 0,95) é, no mínimo, 80% da concentração nominal declarada para cada cepa.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano.*

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA INFLUENZA (FRAGMENTADA, INATIVADA)

Vaccinum influenzae inactivatum ex virorum fragmentis praeparatum

A vacina influenza (fragmentada, inativada) é uma suspensão de antígenos do vírus da gripe composta por diferentes cepas do vírus *influenza*, fracionado e purificado, cuja composição é atualizada a cada ano. É apresentada como suspensão aquosa homogênea e levemente opalescente se estiver adicionada de um adjuvante.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) avalia mundialmente as evidências epidemiológicas da influenza e recomenda as cepas que devem compor a vacina.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente primário, do qual se origina o lote-semente secundário ou de trabalho por meio de passagens em ovos embrionados de galinha SPF (livre de micro-organismos contaminantes) ou em células suscetíveis. O lote de trabalho deve ser avaliado quanto à esterilidade e micoplasmas. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano.

A replicação do vírus pode ser realizada por inoculação na cavidade alantoide de ovos embrionados de galinha, livre de patógenos específicos, ou em cultura de células suscetíveis, provenientes de uma criação reconhecidamente sadia. Se a produção da vacina ocorrer em ovos embrionados, 2% e, no mínimo, 20 ovos são separados para controle. Ao final da produção da vacina, estes ovos não-infectados com a cepa vacinal têm que demonstrar ausência de patógenos específicos para aves.

O líquido alantoide é recolhido dos ovos após um período de incubação a uma temperatura que favoreça a replicação de cada cepa viral. As suspensões de cada tipo de vírus são recolhidas e processadas separadamente. Em seguida elas são tratadas por um processo de reconhecida eficácia que permita inativar o vírus sem alterar sua imunogenicidade. O vírus é purificado por centrifugação ou por outro processo estabelecido e, posteriormente, fragmentado por meio de agentes tensoativos adequados. As partículas fragmentadas são adicionadas em suspensão que pode conter um agente antimicrobiano adequado.

As suspensões monovalentes são submetidas aos controles requeridos antes de ser preparado o produto a granel.

Inativação viral. Proceder conforme descrito em *Inativação viral* em *Testes de segurança biológica.*

Antígeno hemaglutinina. A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples* **(5.6)**.

Antígeno neuraminidase. Detectar o tipo de antígeno neuraminidase por métodos enzimáticos ou imunológicos.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Agentes de fragmentação e purificação. Realizar determinação da concentração residual dos agentes de fragmentação e purificação utilizados, por meio de método adequado e validado. O limite máximo deve ser aprovado pela autoridade regulatória nacional no registro do produto.

Quantidades estabelecidas dos produtos monovalentes são misturadas de modo a originar o produto acabado a granel, que só poderá ser envasado quando aprovado nos testes de controle de qualidade.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano.*

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicados na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder ao ensaio de *Imunodifusão radial simples* ou outro *Método imunoquímico* **(5.6)**, utilizando soros específicos dos componentes virais.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Cumpre o teste. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proteína total (5.3.3.2). Cumpre o teste. No máximo 100 µg por cepa viral e 300 µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia *Vacinas para uso humano*. O limite deve ser determinado pelo histórico da eficácia no registro do produto e não pode ultrapassar 115% do valor declarado na composição da vacina. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Agente de inativação. Realizar determinação da concentração residual do agente de inativação viral por meio de método adequado e validado. Se forem utilizadas soluções de formaldeído ou betapropiolactona, os limites máximos devem ser de, respectivamente, 200 ppm e 0,1% (v/v). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Adjuvante. Determinar o teor da substância utilizada como adjuvante por método validado e aprovado pela Autoridade Regulatória Nacional. A concentração deve estar na faixa que se demonstrou ser efetiva em estudos clínicos. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 100 UE por dose humana.

Ovoalbumina. Determinar o teor de ovoalbumina por *Método imunoquímico* **(5.6)** adequado, utilizando como referência uma preparação padrão de ovoalbumina. No máximo 1µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes dos envase.

Inativação viral. Inocular 0,2 mL da amostra na cavidade alantoide de cada um de, pelo menos, 10 ovos embrionados de galinha. Após incubação à temperatura 33-37 °C por 3 dias, pelo menos 80% dos embriões devem sobreviver. Coletar de cada ovo contendo embrião sobrevivente cerca de 1,0 mL de líquido alantoide e misturá-los. Inocular 0,2 mL da mistura em cada um de 10 ovos embrionados e incubar a 33-37 °C por 3 dias. Coletar cerca de 1 mL do líquido alantoide de cada ovo e realizar individualmente um teste de hemaglutinação para detectar hemaglutininas decorrentes de crescimento viral. Não deve haver reação positiva no líquido alantoide em qualquer uma das séries de diluição.

DOSEAMENTO

Conteúdo de hemaglutinina. A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples* **(5.6)**.

Preparar um gel de ágar a 1% (p/v) contendo soro anti-hemaglutinina específico para a cepa em teste e distribuir 27 mL em uma placa de vidro ou em filme plástico com superfície hidrofílica de 12 cm x 12 cm. Após pelo menos duas horas à temperatura de 2 °C a 8 ºC em câmara úmida, perfurar no gel 49 cavidades equidistantes de 4 mm de diâmetro.

Tratar a amostra em teste e a hemaglutinina de referência com detergente zwiteriônico, sob agitação, por 30 minutos. Preparar uma série de três diluições, em triplicata, da hemaglutinina de referência e da amostra em teste. Preencher aleatoriamente os orifícios com 20 µL das soluções de antígeno e da amostra em teste. Incubar em câmara úmida à temperatura de 20 ºC a 25 ºC por 16 a 20 horas, sobre uma superfície perfeitamente nivelada. Lavar com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) e secar as placas. Proceder à coloração com azul de Coomassie a 0,15% (p/v) ou com outro corante adequado. Medir os diâmetros perpendiculares dos halos de precipitação para cada um dos orifícios com o auxílio de lupa graduada ou outro método adequado. Calcular o teor de hemaglutinina pela comparação entre as curvas do diâmetro médio para cada diluição da amostra em teste e do antígeno de referência, utilizando método de regressão múltipla ou outro método estatístico adequado. No mínimo 15 µg.

O teste será considerado válido se o intervalo de confiança (P = 0,95) estiver compreendido entre 80 e 125% da concentração de hemaglutinina estimada para cada cepa. O limite inferior do intervalo de confiança (P = 0,95) é, no mínimo, 80% da concentração nominal declarada para cada cepa.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano.*

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA MENINGOCÓCICA ACWY (POLISSACARÍDICA)

Vaccinum meningococcale polysaccharidicum

A vacina meningocócica ACWY (polissacarídica) é uma preparação liofilizada de um ou mais polissacarídeos capsulares purificados, obtida a partir de uma ou mais cepas de *Neisseria meningitidis* grupos A, C, Y e W_{135}, capazes de produzir polissacarídeos.

O polissacarídeo meningocócico grupo A consiste de unidades repetidas, parcialmente acetiladas, de N-acetil manosamina unidas por ligações fosfodiéster $1\alpha\rightarrow6$.

O polissacarídeo meningocócico grupo C consiste de unidades repetidas parcialmente acetiladas do ácido N-acetilneuramínico, unidas por ligações glicosídicas $2\alpha\rightarrow9$.

O polissacarídeo meningocócico grupo Y consiste de unidades alternadas de ácido siálico e glicose, parcialmente *O*-acetiladas, unidas por ligações glicosídicas $2\alpha\rightarrow6$ e $1\alpha\rightarrow4$.

O polissacarídeo meningocócico grupo W_{135} consiste de unidades alternadas de ácido siálico e galactose, parcialmente *O*-acetiladas, unidas por ligações glicosídicas $2\alpha\rightarrow6$ e $1\alpha\rightarrow4$.

O componente ou componentes devem ser estabelecidos no rótulo da vacina, juntamente com íons de cálcio e a umidade residual, representando mais de 90% da massa do produto.

A produção dos polissacarídeos meningocócicos é baseada no sistema de lote semente, que é uma quantidade de ampolas mantidas a -70 °C contendo *N. meningitidis*, de composição uniforme, obtido a partir de uma cepa liofilizada de procedência conhecida. As informações relativas à cepa devem incluir características bioquímicas e sorológicas. Os meios de cultura sólidos e líquidos utilizados, respectivamente, para preservar a viabilidade da cepa e nos cultivos de produção devem ser isentos de proteínas de origem animal. A pureza da cultura deve ser avaliada pela morfologia das colônias, exame microscópico, inoculação da amostra em meios de cultivo adequados e aglutinação da cultura com antissoro específico.

O método de produção deve resultar em vacinas meningocócicas polissacarídicas com capacidade imunogênica e isenta de toxicidade.

Os polissacarídeos são purificados por meio de procedimentos efetivos na remoção de ácidos nucleicos, proteínas e lipopolissacarídeos.

A etapa final de purificação consiste de precipitação dos polissacarídeos por álcool etílico, secagem e armazenamento a -20 °C. A perda no processo de secagem é determinada por termogravimetria e o valor obtido é utilizado para calcular os resultados de outros testes físico-químicos com referência à base seca.

Somente os polissacarídeos purificados que cumprirem os requisitos a seguir podem ser utilizados na preparação da vacina produto à granel.

Identificação. O teste de identificação deve ser realizado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** aprovado, utilizando anticorpos específicos para cada grupo de polissacarídeos.

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 20%.

Proteína. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no visível* **(5.2.14)**.

Solução padrão estoque de BSA 0,02% (albumina sérica bovina): pesar 20 mg de albumina sérica bovina e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água destilada.

Solução A: dissolver 2 g de carbonato de sódio em hidróxido de sódio 0,1 *M*, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o hidróxido de sódio 0,1 *M* e homogeneizar

Solução B: dissolver 1 g de sulfato de cobre penta-hidratado ($CuSO_4.5H_2O$) em água destilada, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução C: dissolver 2 g de tartarato de sódio/potássio em água destilada, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Preparar essa solução no momento do uso.

Solução alcalina de cobre: misturar com agitação 0,5 mL da *Solução B* e 0,5 mL da *Solução C*, completar para 50 mL com a *Solução A* e homogeneizar.

Pipetar para tubos de ensaio os volumes de *Solução padrão estoque de BSA 0,02% (albumina sérica bovina)* e água destilada, descritos na **Tabela 1**, para construção da curva analítica:

Tabela 1 – Valores de concentração e volume de solução padrão estoque de BSA e volume de água destilada usados no teste.

Concentração de BSA (µg/mL)	***Volume de BSA estoque (µL)***	***Volume de água destilada (µL)***
10	10	190
25	25	175
50	50	150
100	100	100
150	150	50
200	200	---

Diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro. Retirar três alíquotas de 200 µL da solução da amostra. Preparar o ensaio em branco com 200 µL de água destilada. Adicionar ao branco, padrões e amostras 1 mL de *Solução alcalina de cobre*. Homogeneizar e aguardar 10 minutos. Adicionar 100 µL de reagente fosfomolibdotúngstico (reagente de Folin-Ciocalteau-fenol) 2 *M* diluído em água destilada na proporção 1:1. Homogeneizar imediatamente e aguardar 30 minutos. Caso seja observada turvação, centrifugar as amostras e fazer a leitura das absorbâncias no comprimento de onda de 750 nm. Traçar a curva analítica, concentração de BSA (µg/mL) *versus* leituras de absorvância, com os resultados obtidos nas diversas diluições e calcular, por meio dela, a concentração de proteína na amostra em microgramas por mililitro.

Calcular o percentual de proteína residual, segundo a expressão:

$$\%\text{proteína} = \frac{Cp}{Ca} \times 100$$

em que

Cp = concentração obtida da curva analítica (µg/mL);
Ca = concentração da amostra (µg polissacarídeo seco/mL).

No máximo 1% (p/p) de proteína no polissacarídeo, calculada em relação à base seca.

Fenol residual. Diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro. Para um tubo de ensaio, transferir uma gota dessa solução e, em outro tubo, fazer um controle positivo transferindo uma gota da *Solução padrão de fenol*. Transferir para os tubos os seguintes reagentes: cinco gotas de água destilada; uma gota de *Tampão alcalino pH 9,8*; uma gota da *Solução de 4-aminoantipirina*; uma gota da *Solução de ferricianeto de potássio* e uma gota de *Fosfato monopotássico M*. Não deverá desenvolver coloração vermelho sangue. Não deve ser detectado fenol.

Solução A: pesar 0,05 g de fenol (congelado) e completar o volume para 1000 mL com água destilada.

Solução padrão de fenol: retirar uma alíquota de 20 mL da *Solução A* estoque e completar o volume para 1000 mL com água destilada.

Tampão alcalino pH 9,8: pesar 6,36 g de carbonato de sódio anidro e 3,36 g de bicarbonato de sódio, solubilizar em água, transferir, quantitativamente, para um balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume e homogeneizar. O pH deverá ser de 9,8. Conservar em geladeira ao abrigo da luz.

Solução de 4-aminoantipirina: pesar 3 g de 4-aminoantipirina, solubilizar em água, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar água destilada até completar o volume e homogeneizar. A solução deverá ser preparada no momento do uso.

Solução de ferricianeto de potássio: pesar 12 g de ferricianeto de potássio, solubilizar em água, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar água destilada até completar o volume e homogeneizar. Conservar em geladeira ao abrigo da luz.

Solução de fosfato de potássio monobásico M: pesar 136 g de fosfato de potássio monobásico, solubilizar em água destilada, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar água destilada até completar o volume e homogeneizar.

Ácido nucleico. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria ultravioleta* **(5.2.14)**. Diluir a amostra em balão volumétrico de 10 mL para uma concentração de aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro. Medir a absorvância da solução resultante em 260 nm, utilizando água destilada para ajuste do zero. Calcular o percentual de ácido nucleico segundo a expressão:

$$\%\text{ÁcNu} = \frac{\text{La}}{\text{m}} \times 50$$

em que

%ÁcNu = % de ácidos nucleicos;
La = leitura da amostra;
m = massa do polissacarídeo seco (mg).

No máximo 1% (p/p) do polissacarídeo, calculado em relação à base seca.

Distribuição por tamanho molecular. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)** de exclusão por tamanho. Pesar 5 mg de polissacarídeo, transferir para microtubo de polipropileno de 1 mL e dissolver em 1 mL de *Fase móvel*. Equilibrar o sistema de cromatografia a líquido através da passagem da *Fase móvel* por uma coluna de gel filtração de matriz polimérica hidrofílica de 300 x 7,8 mm para partículas de 10 µm, a uma velocidade de fluxo de 0,8 mL/minuto, até

a obtenção de uma linha estável em temperatura constante de 40 ºC. Injetar 50 µL dos *Marcadores* de V_0 e V_t da coluna e das amostras. Verificar os tempos de retenção dos *Marcadores* e calcular o V_e da amostra, segundo a expressão:

$$V_e = Kd \times (V_t - V_0) + V_0$$

em que
V_e = volume de eluição;
Kd = coeficiente de distribuição;
V_t = volume de eluição do marcador de V_t;
V_0 = volume de eluição do marcador de V_0.

Realizar o cálculo da área correspondente ao volume de eluição (V_e) utilizando Kd igual 0,5. No mínimo 65% do polissacarídeo do grupo A, 75% do polissacarídeo do grupo C e 80% dos polissacarídeos grupos Y e W_{135}, respectivamente, deve ser eluída antes de se atingir um Kd igual a 0,5.

Fase móvel: misturar 1220 mL da *Solução A* com 780 mL da *Solução B*, verificar o pH e ajustá-lo para 7,0. Adicionar acetonitrila, de forma que ela esteja presente a uma concentração final de 15% (v/v).

Solução A: pesar 39,749 g de fosfato de sódio dibásico e completar o volume para 1400 mL com água destilada.

Solução B: pesar 22,078 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado e completar o volume para 800 mL.

Marcadores: V_0 = padrão de Pullulan 1,6 x 106 e V_t = sacarose. Pesar 5 mg de marcador, transferir para microtubo de polipropileno de 1 mL, dissolvendo-os em 1 mL de *Fase móvel*.

Grupos *O*-acetil. O teste é realizado somente nos polissacarídeos A e C. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no visível* **(5.2.14)**. Para o polissacarídeo A, diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro e preparar uma solução amostra diluída (1:20). Para o polissacarídeo C, diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro e preparar uma solução amostra diluída (1:10). Seguir a **Tabela 2** adicionando os seguintes volumes nos respectivos tubos.

Tabela 2 – Preparações das soluções branco, padrões e amostras.

Substâncias	***Água destilada (µL)***	***Solução padrão de trabalho de acetilcolina 600 µg/mL (µL)***	***Polissacarídeo A: amostra 1:20 (µL)***	***Polissacarídeo C: amostra 1:10 (µL)***
Branco	1000	---	---	---
Amostras	---	---	1000	---
	---	---	---	1000
P1 (30 ppm)	950	50	---	---
P2 (120 ppm)	800	200	---	---
P3 (240 ppm)	600	400	---	---
P4 (480 ppm)	200	800	---	---
P5 (600 ppm)	---	1000	---	---

Solução alcalina de hidroxilamina: misturar em volumes iguais as *Soluções A e B* no momento do uso.

Solução A: pesar 13,9 g de cloridrato de hidroxilamina, dissolver em água, transferir, quantitativamente, para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Conservar a solução a 4 °C.

Solução B: pesar 140 g de hidróxido de sódio, dissolver em água destilada, transferir, quantitativamente, para um balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução C: pesar 1,5 g de cloreto de acetilcolina, dissolver em água destilada, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume e homogeneizar.

Ácido clorídrico 1:3: Transferir, para um frasco graduado, 400 mL de água destilada e, lentamente, adicionar 200 mL de ácido clorídrico concentrado.

Solução de cloreto férrico 0,37 M: pesar 50 g de cloreto férrico hexa-hidratado, dissolver com ácido clorídrico 0,1 *M*, transferir para um balão volumétrico de 500 mL, completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar.

Soluções padrão de trabalho de acetilcolina (600 µg/mL): diluir a *Solução C* na proporção de 1:25 em água destilada.

Procedimento: adicionar 2 mL de *Solução alcalina de hidroxilamina*. Aguardar dois minutos, adicionar 1 mL de *Ácido clorídrico 1:3* e 1 mL de *Solução de cloreto férrico 0,37 M*. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 540 nm e traçar a curva analítica.

Calcular a concentração de *O*-acetil segundo a expressão:

$$O-\text{acetil} = \frac{\text{La}}{\text{m}} \times 200$$

em que

O-acetil = concentração de grupos *O*-acetil (µmoles/mg);
La = leitura da amostra (µmol/mL);
m = massa do polissacarídeo seco (mg).

A concentração por grama de polissacarídeo calculada em relação à base seca deve cumprir com os limites de 2,0 mmol/g (p/p) para o grupo A, 1,5 mmol/g (p/p) para o grupo C e 0,3 mmol/g (p/p) para os grupos Y e W135.

Fósforo. Proceder ao teste no polissacarídeo A, conforme descrito em *Espectrofotometria no visível* **(5.2.14)**. Diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro. Preparar uma solução amostra diluída (1:20). Realizar o teste da amostra em triplicata. Adicionar ao tubo de ensaio do branco, 0,1 mL de água destilada e nos tubos de ensaio da amostra, 0,1 mL da amostra diluída (1:20). Adicionar 0,1 mL de *Reativo de mineralização* no branco e nas amostras. Levar os tubos a termobloco a 250 °C durante quatro horas. Deixar esfriar e, em seguida, adicionar a cada tubo

3,9 mL de água destilada. Pipetar para tubos de ensaio os seguintes volumes da *Solução padrão de fósforo 5 µg/mL* e água destilada, para construção da curva analítica, conforme a **Tabela 3**.

Tabela 3 – Preparações das soluções padrões de fósforo para construção da curva analítica.

Concentração de fósforo (µg/tubo)	*Volume da solução padrão de fósforo 5 µg/mL (mL)*	*Volume de água destilada (mL)*
0	0	4,0
1,0	0,2	3,8
2,0	0,4	3,6
4,0	0,8	3,2
8,0	1,6	2,4

Adicionar 4 mL do *Reativo de coloração* a cada tubo da curva analítica e amostras. Homogeneizar e incubar o conjunto de tubos em banho-maria a 37 °C por duas horas. Deixar esfriar. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 825 nm. Traçar a curva analítica em microgramas de fósforo por tubo *versus* absorvância.

Reativo de mineralização: para balão volumétrico de 10 mL, transferir 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e adicionar, muito lentamente, na área central do balão ácido perclórico a 70% (p/p), esfriar, completar o volume e homogeneizar. Armazenar a solução a 4 °C.

Reativo de coloração: no momento de utilizar a solução, adicionar em uma proveta 24 mL de água destilada e acrescentar 12 mL de ácido sulfúrico 3 *M*, 12 mL de solução de molibdato de amônio a 2,5% (p/v) e 12 mL de solução de ácido ascórbico 10%. Homogeneizar e reservar.

Solução padrão de fósforo a 5 µg/mL: essa solução deve ser preparada por diluição a (1:20) da *Solução padrão de fósforo 100 µg/mL*.

Solução padrão de fósforo 100 µg/mL: dissolver 109,7 mg de fosfato de potássio monobásico, previamente dessecado, em 100 mL de água destilada. Transferir para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume até o traço de aferição.

Calcular o percentual de fósforo nas amostras, de acordo com a seguinte expressão:

$$\%\text{fósforo} = \frac{\text{Tf}}{\text{m}} \times 200$$

em que

Tf = teor de fósforo encontrado na curva (µg);
m = massa seca da amostra (mg).

No mínimo 8% (p/p) do polissacarídeo do grupo A, calculado com referência ao peso seco.

Ácido siálico. O teste é realizado para os polissacarídeos C, W e Y. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no visível* **(5.2.14)**. Diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro. Preparar uma solução da amostra diluída (1:100). Transferir para oito tubos de ensaio, respectivamente, 2 mL, 1,5 mL, 1,9 mL, 1,8 mL, 1,6 mL, 1,2 mL, 0,5 mL e 0 mL de água destilada. Considerar o primeiro tubo como branco e acrescentar no segundo tubo 0,5 mL da amostra de polissacarídeo diluída (1:100) e em cada um dos seis tubos restantes adicionar, respectivamente, 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, 1,5 mL e 2 mL de *Solução estoque de ácido N-*

acetil neuramínico (NANA) na concentração de 80 µg/mL e agitar. Para cada tubo (branco, padrão e amostra) adicionar 2 mL do *Reativo de coloração*. Agitar e colocar o conjunto de tubos em banho-maria a 100 °C durante 15 minutos. Após resfriar os tubos em banho de gelo durante 10 minutos, adicionar em cada tubo 4 mL de *Fase orgânica* e agitar durante 30 segundos. Medir a absorvância das soluções resultantes em 585 nm, utilizando branco para ajuste do zero. Somente a parte superior (coloração azul) deve ser submetida à leitura. Traçar a curva analítica a partir dos dados obtidos.

Solução de resorcinol 4%: dissolver 2 g de resorcinol em água destilada, transferir para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Essa solução é conservada a 4 °C por uma semana. Caso apareça uma coloração rósea, a solução deve ser desprezada.

Solução de sulfato de cobre 0,1 M: dissolver 2,497 g de sulfato de cobre em balão volumétrico contendo 2/3 de água destilada e completar o volume até 100 mL com água destilada. A solução deve ser conservada à temperatura ambiente.

Fase orgânica: para balão volumétrico de 100 mL, transferir 15 mL de álcool butílico, completar o volume com acetato de butila e homogeneizar.

Solução estoque de ácido N-acetil neuramínico (NANA): para balão volumétrico de 100 mL transferir 40 mg de ácido *N*-acetil neuramínico, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Distribuir 2 mL desta solução em frascos de pequeno volume e congelar a – 20 °C.

Solução de trabalho a 80 µg/mL: para balão volumétrico de 10 mL transferir 2 mL da *Solução estoque de ácido N-acetil neuramínico (NANA)*, completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Reativo de coloração: no momento do uso, transferir para balão volumétrico de 50 mL, 40 mL de ácido clorídrico concentrado, 2,5 mL de *Solução de resorcinol 4%* e 0,25 mL de *Solução de sulfato de cobre 0,1 M*. Completar para 50 mL com água destilada e homogeneizar.

Calcular a porcentagem de ácido siálico segundo a expressão:

$$\%\text{ÁcSi} = \frac{\text{Tc} \times 291{,}80 \times 100}{\text{m} \times 0{,}5 \times 309{,}28}$$

em que

%ÁcSi = porcentagem de ácido siálico;
Tc = teor encontrado na curva;
m = massa seca da amostra (mg).

No mínimo 80% (p/p) do polissacarídeo do grupo C, quando se utiliza ácido *N*-acetil neuramínico para preparar a solução de referência. No mínimo 56% (p/p) dos polissacarídeos grupos Y e W_{135}. As soluções de referência utilizadas são ácido *N*-acetil neuramínico e glicose para o grupo Y, e ácido *N*-acetil neuramínico e galactose para o grupo W_{135}.

Cálcio. Diluir a amostra para aproximadamente 10 mg de polissacarídeo seco por mililitro. Em um erlenmeyer colocar exatamente 1 mL de amostra, 25 mL de água destilada, indicador (cálcon) e 2 mL de *Solução de hidróxido de sódio 10%*. Titular com *Solução de EDTA 0,005 M* até mudança de coloração do indicador. Realizar em paralelo, prova em branco.

Solução de EDTA 0,005 M: dissolver 925 mg de edetato dissódico em água destilada, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 500 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução de hidróxido 10%: pipetar 20 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 50% (p/v), transferir para balão volumétrico de100 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Calcular a concentração de cálcio pela equação.

$$\%\ Cálcio = \frac{V \times N \times f \times 0{,}02 \times 100}{massa\ do\ polissacarídeo\ seco\ (g)}$$

em que

V = volume gasto de EDTA (mL);
N = normalidade do EDTA;
f = fator de correção do EDTA;
0,02 = mEq do cálcio.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Utilizar para cada meio de cultivo 10 mL ou o equivalente a 100 doses, o que for menor. Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Diluir o polissacarídeo para 0,025 µg/mL e injetar 1 mL/kg. Não reutilizar os animais usados no teste. Cumpre o teste.

No preparo da vacina produto a granel podem ser adicionados um adjuvante, um conservante e um estabilizador, antes da diluição final com diluente adequado. Antes do envase, as amostras do produto devem ser submetidas ao teste de Esterilidade. Se cumprir o requisito, o produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação deve ser realizado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** aprovado, utilizando anticorpos específicos para cada grupo de polissacarídeos.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. As vacinas liofilizadas devem apresentar-se na forma de uma pastilha móvel e de cor branca. Após a reconstituição com o diluente, a vacina deve apresentar-se como uma solução incolor.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

Distribuição por tamanho molecular. Proceder conforme descrito em *Distribuição por tamanho molecular* para os polissacarídeos purificados, por exclusão de tamanho.

Para uma vacina grupos A e C, 65% e 75%, respectivamente, dos grupos A e C são eluídos antes do Kd (coeficiente de distribuição) igual a 0,50.

Para uma vacina tetravalente (grupos A, C, Y e W135), quando se aplica a cromatografia e um método imunoquímico, os Kd para um pico principal devem ser menores ou iguais a 0,70 para os grupos A e C, 0,57 para o grupo Y e 0,68 para o grupo W135.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Diluir as vacinas para conter em cada mL 0,025 µg de polissacarídeo para uma vacina monovalente; 0,050 µg de polissacarídeo para uma vacina divalente e 0,10 µg para uma vacina tetravalente. Injetar 1 mL/kg. Não reutilizar os animais usados no teste. Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Concentração dos polissacarídeos sorogrupos A, C e W_{135}.

Para a realização do teste deve ser utilizado equipamento de eletroforese capilar contendo estabilizador eletrônico digital microprocessado, detector UV com comprimento de onda de 200 nm, lâmpada de deutério e amostrador automático, acoplado a um sistema computadorizado com *software* de aquisição e processamento dos resultados. Utilizar voltagem de 10,0 KV, corrente na faixa de 40-60 µA, potência 0,5 W e pressão de injeção 50 mbar.

Equilibrar o sistema para realização da análise acondicionando o capilar com hidróxido de sódio *M* durante 20 minutos, com hidróxido de sódio 0,1 *M* por 10 minutos e com água ultrapurificada durante cinco minutos.

Solução de fosfato de sódio dibásico 0,2 M: pesar 100 mL, 2,8 g de fosfato de sódio dibásico em balança analítica, dissolver em aproximadamente 70,0 mL de água ultrapurificada em banho ultrassônico até sua dissolução total e ajustar o pH com solução ácido clorídrico 0,1 *M* até pH 7,0. Transferir a solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar água ultrapurificada até completar o volume e homogeneizar.

Solução tetraborato de sódio 0,2 M: pesar em um frasco de 100 mL, 4,024 g de tetraborato dissódico em balança analítica, dissolver em aproximadamente 70 mL de água ultrapurificada em ultrassom com aquecimento (faixa de temperatura de 40 - 45 °C) por aproximadamente 30 minutos até dissolução total dos cristais. Transferir a solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar água ultrapurificada até completar o volume. Homogeneizar a solução.

Tampão de fosfato-borato: retirar alíquota de 4 mL da *Solução de fosfato de sódio dibásico 0,2 M*, juntar com 1 mL *Solução tetraborato de sódio 0,2 M* e 10 mL de água ultrapurificada. Proporção de 4:1:10. O pH final desta solução é 9,0. A solução tampão deve ser filtrada com filtro de 0,22 µm de tamanho de poro, antes de ser utilizada.

Solução de hidróxido de sódio M: pesar, com exatidão, 4 g de hidróxido de sódio e dissolver em aproximadamente 70 mL de água ultrapurificada. Transferir, quantitativamente, a solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar água ultrapurificada até completar o volume e homogeneizar. A solução deve ser filtrada em filtro de 0,22 µm de tamanho de poro, antes de ser utilizada.

Solução de hidróxido de sódio 0,1 M: diluir 10 vezes a *Solução de hidróxido de sódio M*. A solução deve ser filtrada em filtro de 0,22 µm de tamanho de poro, antes de ser utilizada.

Preparar padrões dos polissacarídeos A, C e W_{135} a serem utilizados na curva de calibração, na concentração de 500 µg/mL. Reconstituir a vacina meningocócica com *Tampão de fosfato-borato* e filtrá-la em filtro de 0,22 µm de tamanho de poro antes de transferi-la para os frascos de amostragem do equipamento.

As soluções padrão utilizadas como pontos da curva de calibração devem ser preparadas em tubos de ensaio (5 tubos = P1, P2, P3, P4 e P5), adicionando-se, respectivamente, 450 µL, 600 µL, 750 µL, 900 µL e 1050 µL da solução contendo 500 µg/mL de polissacarídeo de cada sorogrupo e, também respectivamente, 1050 µL, 900 µL, 750 µL, 600 µL e 450 µL de *Tampão de fosfato-borato*. (Observação: filtrar em filtro de 0,22 µm de tamanho de poro todos os pontos das curvas antes de transferi-los para os frascos de amostragem do equipamento).

Construir a curva de calibração para cada sorogrupo de polissacarídeo por regressão linear (concentração dos pontos da curva *versus* áreas dos sinais obtidos) para os padrões dos sorogrupos W_{135}, C e A.

Calcular a concentração da amostra a partir dos resultados das áreas plotadas em cada curva de padrão de cada polissacarídeo (W_{135}, C e A) conforme a equação da reta: y = ax + b.

$$\text{Concentração de polissacarídeo (µg/mL)} = \left(\frac{y-b}{a}\right)$$

$$\text{Concentração de polissacarídeo (µg/dose)} = \left(\frac{y-b}{a}\right) \times 2{,}5$$

em que

y = área relativa a cada polissacarídeo;
a = coeficiente angular;
b = coeficiente linear;
2,5 = volume de tampão usado para reconstituição do liófilo.

Os seguintes métodos também podem ser utilizados:

Para uma vacina dos grupos A e C, verificar a concentração de fósforo e ácido siálico como já descritos.

Para uma vacina tetravalente, utilizar um método imunoquímico adequado com um padrão de referência para cada um dos grupos A, C, Y e W_{135}.

Cada polissacarídeo deve estar contido na vacina na faixa de 70% a 130% do valor estabelecido no rótulo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA MENINGOCÓCICA C (CONJUGADA)

Vaccinum meningococcale classis C conjugatum

A vacina meningocócica grupo C (conjugada) é uma preparação líquida ou liofilizada de polissacarídeo capsular, obtido a partir de uma cepa adequada de *Neisseria meningitidis* grupo C, covalentemente ligado a uma proteína carreadora.

O polissacarídeo meningocócico grupo C consiste de unidades repetidas de ácidos siálicos, parcialmente *O*-acetilado ou *O*-desacetilado, ligadas com pontes glicosídicas $2\alpha\rightarrow9$. A proteína carreadora, quando conjugada ao polissacarídeo meningocócico grupo C, é capaz de induzir uma resposta imune dependente de célula-T. A vacina pode conter um adjuvante.

A produção do polissacarídeo meningocócico grupo C é baseada no sistema de lote semente, que é uma quantidade de ampolas contendo *N. meningitidis* grupo C liofilizado, de composição uniforme, obtido a partir de uma cepa liofilizada de procedência conhecida. Os meios de cultura utilizados para preservar a viabilidade da cepa liofilizada não devem ser constituídos de proteínas de origem animal. A pureza da cultura deve ser avaliada pela morfologia das colônias, exame microscópico, inoculação da amostra em meios de cultivo adequados e aglutinação da cultura com antissoro específico.

A *N. meningitidis* grupo C é cultivada em um meio líquido adequado, que não contém polissacarídeos de alto peso. A cultura pode ser inativada por calor e filtrada antes da precipitação do polissacarídeo. O precipitado é purificado por métodos adequados para a remoção de ácidos nucleicos, proteínas e lipopolissacarídeos; a etapa final de purificação deve consistir de uma precipitação com álcool etílico, podendo também ser incluída uma etapa de *O*-desacetilação. As substâncias voláteis no polissacarídeo purificado, inclusive água, são determinadas por termogravimetria ou outro método adequado. O valor é utilizado para o cálculo dos resultados de outros testes com referência à substância dessecada.

Somente os polissacarídeos meningocócicos grupo C que cumprirem os requisitos a seguir podem ser utilizados na formulação da vacina produto à granel.

Identificação. O polissacarídeo meningocócico grupo C é identificado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** ou outro método adequado, como espectrometria por ressonância magnética nuclear 1H.

Proteína. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacina meningocócica ACWY (polissacarídica)*. No máximo 1,0% de proteína na substância seca.

Ácido nucleico. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacina meningocócica ACWY (polissacarídica)*. No máximo 1,0% por grama de polissacarídeo, calculado com referência à substância seca.

Distribuição por tamanho molecular. A porcentagem de polissacarídeo eluído antes de um dado valor Kd (coeficiente de distribuição) ou dentro de uma faixa de valores Kd, é determinada por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)** de exclusão por tamanho. Um valor aceitável é estabelecido especificamente para o produto e cada lote do polissacarídeo meningocócico grupo C deve estar de acordo com esse limite.

Grupos *O*-acetil. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacina meningocócica ACWY (polissacarídica)*. Um valor aceitável é estabelecido para cada produto e cada lote do polissacarídeo meningocócico grupo C deve estar de acordo com este limite.

Ácido siálico. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacina meningocócica ACWY (polissacarídica)*. No mínimo 0,800 g de ácido siálico por grama de polissacarídeo meningocócico grupo C.

Reagentes residuais. Quando for relevante, devem ser realizados testes para determinar resíduos de reagentes utilizados durante a inativação e a purificação. Um valor aceitável para cada reagente é estabelecido especificamente para o produto e cada lote de polissacarídeo meningocócico grupo C deve estar de acordo com este limite. Caso os métodos para remoção de um reagente residual tenham sido validados, o teste no polissacarídeo meningocócico grupo C pode ser omitido.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 100 UE/μg de polissacarídeo meningocócico grupo C.

PROTEÍNA CARREADORA

A proteína carreadora, quando conjugada ao polissacarídeo meningocócico grupo C, deve ser capaz de induzir uma atividade imunogênica adequada. A anatoxina tetânica ou a proteína diftérica CRM 197 são aprovadas para a conjugação. As proteínas carreadoras são produzidas por meio da cultura dos respectivos micro-organismos, na qual é verificada a pureza bacteriana. O cultivo pode ser inativado e a proteína carreadora é purificada por métodos adequados. A proteína carreadora a ser utilizada no preparo do conjugado deve cumprir com os seguintes requisitos. Os micro-organismos utilizados para a produção da proteína carreadora devem ser cultivados em meios de cultura livres de substâncias que possam causar reações tóxicas ou alergênicas ao ser humano. Caso algum componente de origem animal for utilizado no preparo ou preservação do lote semente, ou no processo produtivo, deve cumprir com as exigências estipuladas pela autoridade regulatória nacional.

Identificação. A proteína carreadora é identificada sorologicamente por um *Método imunoquímico* **(5.6)** adequado. Os métodos físico-químicos que podem ser utilizados para caracterizar a proteína incluem SDS-PAGE; focalização isoelétrica; CLAE; análise de aminoácidos; sequência de aminoácidos; dicroísmo circular; espectroscopia de fluorescência; mapeamento de peptídeo e espectrometria de massa.

Anatoxina tetânica. A anatoxina tetânica é produzida como descrito na monografia de *Toxoide tetânico adsorvido*. Cumpre com os requisitos para anatoxina tetânica purificada, exceto para o teste de esterilidade, o qual não é requerido. O produto apresenta pureza antigênica de, no mínimo, 1500 Lf/mg de nitrogênio proteico.

Proteína diftérica CRM 197. Contém, no mínimo, 90% de proteína diftérica CRM 197, determinada por um método adequado. Alguns testes devem ser realizados, para validação ou rotineiramente, para demonstrar ausência de toxicidade no produto.

O polissacarídeo meningocócico grupo C é modificado quimicamente, sendo parcialmente despolimerizado antes ou durante o procedimento. O conjugado é obtido pela ligação covalente do oligossacarídeo meningocócico grupo C ativado e a proteína carreadora e deve ser submetido aos seguintes controles.

Concentração de sacarídeo. O teor de sacarídeo é determinado por um teste validado adequado, como o ensaio *Ácido siálico*, conforme descrito na monografia de *Vacina meningocócica ACWY (polissacarídica),* e *Cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada* **(5.2.17.3)**.

Proteína. O conteúdo de proteína deve ser determinado por um método validado e aprovado pela autoridade regulatória nacional. Um valor aceitável é estabelecido para cada produto e cada lote de conjugado a granel deve estar de acordo com esse limite.

Razão polissacarídeo/proteína. Quociente entre concentração de polissacarídeo e concentração proteica. Para cada conjugado, a relação deve estar de acordo com a faixa aprovada pela autoridade regulatória nacional.

Distribuição por peso molecular. A porcentagem de polissacarídeo eluído antes de um dado valor Kd ou dentro de uma faixa de valores Kd, é determinada por *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)** de exclusão por tamanho. Um valor aceitável é estabelecido especificamente para o produto e cada lote de conjugado a granel de polissacarídeo deve estar de acordo com este limite.

Polissacarídeo livre. A concentração de polissacarídeo livre é determinada após a remoção do conjugado, por cromatografias de troca iônica, exclusão por tamanho ou hidrofóbica, ultrafiltração, *Ensaio imunoquímico* **(5.6)** ou outros métodos validados. Um valor aceitável é estabelecido para cada produto e cada lote de conjugado a granel deve estar de acordo com este limite.

Proteína livre. A concentração pode ser determinada diretamente por um método adequado ou por derivação, por meio do cálculo dos resultados de outros testes. O valor deve estar dentro dos limites aprovados para cada produto.

Reagentes residuais. A remoção de reagentes residuais, como cianeto, é confirmada por testes adequados ou por validação do processo.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Utilizar para cada meio de cultivo 10 mL ou o equivalente a 100 doses, o que for menor.

No preparo da vacina produto acabado a granel podem ser adicionados um adjuvante, um conservante e um estabilizador, antes da diluição final com diluente adequado. Antes do envase, as amostras do produto devem ser submetidas aos testes de *Esterilidade* e *Timerosal*.

O produto é envasado em recipientes adequados e, se for o caso, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identidade deve ser realizado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** aprovado, utilizando anticorpos específicos para o polissacarídeo purificado.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina ou, no caso do componente liofilizado, o pH deve ser determinado após a reconstituição com o diluente adequado. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Alumínio. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 1,25 mg/dose individual humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Polissacarídeo livre. A concentração de polissacarídeo livre é determinada após a remoção do conjugado por cromatografias de troca iônica, exclusão por tamanho ou hidrofóbica, ultrafiltração, *Método imunoquímico* **(5.6)** ou outros métodos validados. Um valor aceitável consistente com imunogenicidade adequada, conforme descrito em estudos clínicos, é estabelecido para cada produto e cada lote final deve estar de acordo com este limite.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 25 UE por dose humana.

DOSEAMENTO

Concentração de sacarídeo. Determinar a concentração de polissacarídeo por meio do ensaio *Ácido siálico*, conforme descrito na monografia de *Vacina meningocócica ACWY (polissacarídica),* ou por *Cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada* **(5.2.17.3)**. No mínimo 80% da concentração de polissacarídeo do grupo C declarada no rótulo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (ATENUADA)
Vaccinum poliomyelitidis perorale typus I, II, III

vacina poliomielite 1, 2 e 3 (atenuada); 09051

A vacina oral contra poliomielite consiste de mistura de poliovírus atenuados tipos 1, 2 e 3. É apresentada como suspensão aquosa homogênea transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de cada um dos sorotipos de vírus não pode ter mais de três subcultivos a partir do lote original, não podendo induzir neuropatogenia em macacos suscetíveis aos três tipos de poliovírus. A cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano.

A replicação de cada um dos três poliovírus é realizada em cultura de células suscetíveis e a suspensão viral é identificada e controlada quanto à esterilidade. Após clarificação da suspensão viral por método adequado para remoção de resíduos celulares, algumas substâncias estabilizadoras, que, comprovadamente, não alteram a eficácia do produto, são adicionadas. Antes da formulação, cada suspensão viral purificada é avaliada quanto à identificação, concentração viral, esterilidade, consistência da característica viral e neurovirulência em macacos suscetíveis. Após a mistura, a vacina a granel trivalente é submetida aos controles de concentração viral, esterilidade, teor do estabilizador utilizado e pH.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Diluir a amostra, adicionar igual volume de mistura de soros antipoliovírus 1, 2, 3 e incubar a 37 °C durante uma hora. Após a incubação, inocular a mistura em células suscetíveis e incubar à temperatura de 35 °C por sete dias. Como controle, utilizar cultura de células inoculada com a diluição da vacina e outra não inoculada, que apresentam, respectivamente, presença e ausência de efeito citopatogênico (ECP). A ausência de ECP na cultura de células inoculada com a mistura de vacina e soros antipoliovírus identifica os vírus vacinais.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Líquido móvel de coloração rósea a avermelhada.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,0 a 7,0.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Diluir, em meio de cultura adequado, duas amostras da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência. O intervalo entre as diluições é de, no mínimo, 0,5 $\log_{10}$, e as amostras são diluídas separadamente. Para a determinação de cada tipo de poliovírus, adicionar volumes iguais de cada diluição da vacina à mistura apropriada de soro antipoliovírus. Assim, para a determinação do poliovírus tipo 1, adicionar as diluições da amostra à mistura de soros antipólio tipos 2 e 3; para o poliovírus tipo 2, adicionar as diluições à mistura de soros antipólio tipos 1 e 3 e para o poliovírus 3, adicionar as diluições da vacina à mistura de soros antipólio tipos 1 e 2. Para a determinação do vírus total, adicionar volumes iguais de cada diluição da vacina ao meio de cultura utilizado na diluição. Incubar por uma a três horas à temperatura de 35 °C a 36 °C. Após a incubação, inocular cada diluição da vacina em, no mínimo, oito orifícios de microplaca contendo a suspensão de células $Hep2_C$. Incubar as microplacas a 35 °C por sete dias. Observar a presença ou ausência de ECP nas culturas de células. Calcular o título de cada sorotipo por método estatístico validado.

A potência da vacina é o valor da média geométrica dos frascos analisados, expressa em $CCID_{50}$ (dose 50% infectante em cultura de células) por dose. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) o controle de cultura de células apresente monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as duas amostras da vacina seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ para cada sorotipo; (c) a potência da vacina de referência varie, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ do título médio de cada sorotipo; (d) o ECP seja decrescente em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

A potência é de, no mínimo, 10^6 para o poliovírus tipo 1, 10^5 para o polivírus tipo 2 e $10^{5,78}$ para o poliovírus tipo 3. O intervalo de confiança de 95% do ensaio não pode diferir de um fator maior do que $10^{0,5}$ do $CCID_{50}$ estimado, para cada tipo de vírus contido na vacina. Caso a amostra não cumpra os requisitos, repetir o teste para o(s) tipo(s) de vírus em que a potência estiver abaixo do valor mínimo especificado. A potência é a média das duas determinações realizadas.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar duas amostras da vacina à temperatura de 37 °C por 48 horas e determinar o conteúdo total de vírus (tipo 1 + tipo 2 + tipo 3), utilizando o método descrito em *Doseamento*. A vacina pode perder, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ em relação ao título do vírus total, determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura. Caso não cumpra o requisito, repetir o teste. O título final é a média dos dois ensaios realizados.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA)

Vaccinum poliomyelitidis inactivatum

A vacina poliomielite inativada é constituída de mistura de poliovírus tipos 1, 2 e 3 inativados e apresentada como um líquido transparente, podendo **surgir** coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e cada um dos sorotipos presentes pode ter no máximo 10 subcultivos a partir do lote original. A replicação do vírus é realizada em cultura de células suscetíveis e a suspensão viral é identificada e controlada quanto à esterilidade. Após clarificação da suspensão viral por método adequado, para remoção de resíduos celulares, cada suspensão viral é concentrada e purificada. A suspensão de cada tipo de vírus é identificada, avaliada quanto à esterilidade, micoplasmas e concentração de vírus. A inativação de cada suspensão viral é realizada separadamente, por um método apropriado como a adição de agentes químicos em condições adequadas. O agente químico mais utilizado é o formaldeído. Antes da mistura dos três tipos de poliovírus inativados e da adição de conservante e outras substâncias, cada suspensão de vírus é avaliada quanto à efetividade da inativação. Após a mistura dos três poliovírus e antes do envase, são realizados controles de ausência de partículas infectivas em células suscetíveis, esterilidade e concentração de conservante.

A vacina é envasada em recipientes adequados, rotulada e submetida aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Atende aos requisitos descritos em *Doseamento.*

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proteína. Utilizar o método de Kjeldahl **(5.3.3.2)** ou outro método adequado e validado. No máximo 10 μg/dose.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Albumina bovina. No máximo 50 ng por dose humana, determinado por *Método imunoquímico* **(5.6)**.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 5 UE por dose.

DOSEAMENTO

Utilizar método imunoenzimático de sensibilidade comprovada para avaliação da concentração do antígeno D de cada um dos três sorotipos de poliovírus presentes na vacina. Avaliar vacina de referência em paralelo.

A potência é expressa em unidades de antígeno D por dose para os poliovírus tipos 1, 2 e 3 e seus limites mínimos devem estar de acordo com o histórico do registro do produto, aprovados pela autoridade regulatória nacional.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA RAIVA (INATIVADA)
Vaccinum rabiei inactivatum

vacina raiva (inativada); 09053

A vacina é uma suspensão inativada preparada a partir de vírus rábico replicado em cultura de células e pode ser apresentada sob as formas liofilizada ou em suspensão. A vacina liofilizada, após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo apresentar coloração, devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente de vírus, que deve estar devidamente caracterizado. Os lotes são submetidos aos controles de identificação viral, esterilidade e potência infectiva. Além disso, é necessário que a cepa viral demonstre imunogenicidade adequada para o ser humano. A replicação do vírus é realizada em cultura de célula suscetível e controlada quanto a esterilidade, identificação viral e potência infectiva. No processo de produção, é preparada suspensão viral intermediária de concentração conhecida e submetida à centrifugação, purificação e inativação viral por método validado em que, usualmente, se emprega beta-propiolactona a 1:4000 ou irradiação por ultravioleta. Após a inativação, o produto é concentrado e são realizados testes de esterilidade, inativação viral e atividade imunogênica. A preparação final deve ser isotonizada, podendo conter conservantes e indicador de pH. Antes do envase, o produto é submetido aos controles de esterilidade, atividade imunogênica e conservantes.

A vacina é envasada em recipientes adequados, podendo ser liofilizada, rotulada e submetida aos controles adequados.

IDENTIFICAÇÃO

A *Determinação da atividade imunogênica* pode ser utilizada.

Fenol. Ensaio aplicado quando o conservante estiver presente. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 0,15% (1500 ppm). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Ensaio aplicado quando o conservante estiver presente. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 0,015% (150 ppm). É facultado ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Umidade residual. Ensaio aplicado ao produto liofilizado. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho uma dose humana da vacina diluída (1:10) em solução salina estéril e apirogênica.

Verificação da inativação viral.

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Inocular, por via intracerebral, 10 µL da amostra em, no mínimo, 20 camundongos lactentes (5 a 10 dias) e 30 µL em, no mínimo, 20 camundongos albinos suíços de 10 g a 15 g. Observar os animais inoculados por 21 dias. Durante o período de observação os animais não podem apresentar sintomas neurológicos ou morte. Se isto ocorrer, realizar o teste de *Imunofluorescência direta* no cérebro dos animais suspeitos. O produto cumpre com os requisitos se nenhum dos animais inoculados apresentar sintomas clássicos de raiva. Caso seja verificada evolução de sintomas neurológicos ou morte dos animais inoculados, a confirmação da infecção rábica dependerá da positividade detectada no ensaio de *Imunofluorescência direta*.

Imunofluorescência direta: cortar o cérebro do camundongo sob suspeita de raiva, de maneira que as secções centrais se voltem para cima. Preparar impressões pareadas em lâmina de vidro para microscopia, devidamente identificada. Paralelamente, preparar em lâminas devidamente identificadas, impressões para controle, utilizando camundongos sabidamente negativos e positivos para raiva, que, respectivamente, servirão de controles negativo e positivo. Deixar secar as lâminas por 30 minutos à temperatura de 20 °C a 25 °C e fixar as impressões em acetona previamente resfriada a -20 °C, mantendo-as incubadas por duas a quatro horas a -20 °C. Deixar secar as lâminas à temperatura de 20 °C a 25 °C. Proceder a coloração, circundando as impressões com substância que sirva para reter o conjugado durante o período de incubação. Pode ser empregado esmalte. Descongelar, no momento do uso, duas alíquotas de diluição de trabalho de conjugado para identificação do vírus rábico (anticorpos contra o vírus rábico marcados geralmente com isotiocianato de fluoresceína) e diluir uma das alíquotas, na proporção de 1:5, com suspensão a 20% de cérebro de camundongos não infectado (SCN). Diluir a outra alíquota da mesma forma, mas em suspensão a 20% de cérebro de camundongos infectado com vírus rábico (SCI) e homogeneizar. Posicionar a lâmina de forma que sua identificação fique voltada para o lado esquerdo do operador e depositar as misturas sobre as impressões, utilizando pipetas Pasteur distintas. Cobrir a impressão da esquerda com a mistura "conjugado + SCN" e a da direita com a mistura "conjugado + SCI" e incubar em câmara-úmida por 30 minutos a 37 º C. Após incubação, lavar com tampão fosfato-salina PBS (com de pH 7,6 a 8,0) e deixar por 10 minutos em imersão no mesmo diluente. Escorrer o diluente e lavar com água destilada para evitar formação de cristais. Deixar secar e montar com glicerina tamponada pH 8,5 a 9,0 para aumentar a intensidade das fluorescências, colocando lamínula. Examinar em microscópio de fluorescência, com aumento de 100 vezes. Examinar primeiro a impressão controle negativo tratada com a mistura "conjugado + SCN". A SCN é isenta de vírus rábico, logo, o conjugado permanece livre para reagir com o antígeno presente na impressão, havendo assim a emissão de fluorescência. Dessa forma, o antígeno será evidenciado como inclusões ou poeira fina, de coloração verde. Em seguida, observar a impressão controle positivo tratada com a mistura "conjugado + SCI". O conjugado é adsorvido pelo antígeno presente na SCI, não restando, portanto conjugado disponível para reagir com o antígeno rábico presente na impressão, não havendo a emissão de fluorescência. O antígeno não será evidenciado nesta impressão. Observar as impressões da lâmina controle negativo nesta mesma ordem. Não deve ser observada fluorescência; após a verificação de que os controles estejam satisfatórios, observar as impressões do material em teste; a presença do vírus rábico no material analisado, ou seja, a positividade, é constatada quando observa-se, na lâmina teste, fluorescência somente na impressão que recebeu a mistura "conjugado + SCN", o que não é verificado na impressão onde foi depositada a mistura "conjugado + SCI"; a ausência do vírus rábico no material examinado, ou seja, a negatividade é constatada quando não é observada fluorescência.

B. Método de verificação de inativação viral amplificado.

Inocular quantidade equivalente a, no mínimo, 25 doses de *Vacina raiva (inativada)* em cinco culturas de células, do mesmo tipo utilizado na produção da vacina ou outra cultura de células com sensibilidade semelhante ao vírus rábico. A proporção usada é de 3 cm^2 de cultura por mililitro de

vacina. Após a adsorção do vírus é adicionado meio de cultura em proporção não superior a 1:3 do volume da vacina utilizada. As culturas são observadas durante 21 dias e a detecção da presença de vírus rábico pode ser feita pela inoculação em camundongos ou por imunofluorescência.

Por inoculação em camundongos, no 14º e no 21º dia de cultivo: 0,03 mL de uma mistura das amostras do sobrenadante das culturas é inoculada, por via intracerebral, em 20 camundongos albino suíços de 12 g a 15 g. Os animais são observados por 14 dias e qualquer sintoma de raiva deve ser confirmado por imunofluorescência.

Por imunofluorescência: as culturas são examinadas no 21º dia após a inoculação e por meio do teste de imunofluorescência é pesquisada a presença do vírus rábico.

O teste é considerado satisfatório se ao fim do período de observação não for detectada a presença de vírus rábico ou o aparecimento de efeitos citopáticos nas culturas.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOGÊNICA

Método de desafio em camundongos: preparar, no mínimo, três diluições da amostra e da vacina de referência em salina tamponada fosfatada pH 7,6 e inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL de cada diluição em, no mínimo, 16 camundongos albinos suíços de 10 g a 15 g. Reservar 30 animais não inoculados para o controle de título do vírus desafio. Realizar imunização de reforço inoculando as mesmas diluições em cada grupo de camundongos, sete dias após a primeira imunização. Sete dias após a segunda imunização, executar o desafio, inoculando em cada camundongo volume de 30 µL, que contenha aproximadamente 50 DL_{50} de vírus rábico fixo da cepa CVS (*challenge virus standard*), por via intracerebral, de cada camundongo. Preparar duas diluições decimais a partir da diluição de desafio e inocular 30 µL dessas diluições e da diluição de desafio, por via intracerebral, nos três grupos de 10 camundongos dos animais não imunizados. Observar os animais por 14 dias, registrando o número de vivos de cada mistura. Os animais mortos antes do quinto dia após a inoculação não devem ser considerados para o cálculo da atividade imunogênica. Calcular as doses efetivas 50% (DE_{50}) da amostra e da vacina de referência, assim como a DL_{50} do vírus desafio, por método estatisticamente validado. A faixa de resposta produzida pela amostra teste (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na curva de regressão do padrão, que deve apresentar relação linear. A atividade imunogênica é determinada pela equação:

$$AI\ (UI/mL) = \frac{DE_{50}\ da\ amostra\ \times\ UI/mL\ da\ vacina\ de\ referência}{DE_{50}\ da\ vacina\ de\ referência}$$

AI = atividade imunogênica

No mínimo 2,5 UI/dose individual humana. Quando se refere o valor da atividade imunogênica (UI/mL) deve ser citado o número de DL_{50} real obtido na titulação do vírus desafio, que é igual ao antilogaritmo da diferença entre a DL_{50} calculada e a diluição da dose desafio utilizada. Os limites de confiança não devem estar abaixo de 25% ou acima de 400% da atividade determinada. A titulação da suspensão de desafio deve apresentar no mínimo 10 DL_{50}. A análise estatística deve demonstrar que não há desvios de linearidade e paralelismo das curvas dose-resposta.

TERMOESTABILIDADE

Incubar a amostra em temperatura entre 35 °C e 37 °C por quatro semanas e proceder à *Determinação da atividade imunogênica*. No mínimo 2,5 UI/dose individual humana.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre com o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA ROTAVÍRUS HUMANO (ATENUADA)
Vaccinum rotaviri vivum perorale

A vacina rotavírus (atenuada) é obtida a partir de um ou mais sorotipos de uma cepa viva atenuada do rotarívus humano, cultivada em um substrato celular adequado. É apresentada como suspensão aquosa homogênea transparente ou liofilizada a ser reconstituída imediatamente para resultar em uma suspensão ligeiramente turva. A vacina pode apresentar coloração devido à presença de um indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e um sistema de banco de células, e o método deve demonstrar produção de vacinas com consistência e cumprir com os requisitos para imunogenicidade, segurança e estabilidade. A replicação do vírus é realizada em cultura de células suscetíveis, provenientes de um banco de células primário. O vírus na vacina final não deve ter um número maior de passagens do que aquelas utilizadas para preparar a vacina empregada nos estudos clínicos. A cepa de cada um dos sorotipos do vírus utilizados para o preparo do lote-semente primário deve possuir registros históricos, quanto sua origem e manipulações subsequentes, assim como cumprir com os controles de identidade, concentração de vírus e agentes adventícios. Culturas intermediárias de vírus ou inóculos de produção são submetidas aos ensaios de identidade, esterilidade, concentração de vírus e agentes adventícios. As suspensões virais monovalentes ou a mistura de várias suspensões obtidas para a produção da vacina é controlada quanto à identidade, esterilidade, agentes adventícios e concentração de vírus. A suspensão viral monovalente é então purificada por um método adequado para a remoção de resíduos celulares e, antes da formulação, deve ser avaliada quanto à concentração viral, esterilidade e ADN celular residual.

O produto acabado a granel é obtido pela mistura de uma ou várias suspensões virais monovalentes purificadas, podendo conter mais do que um sorotipo e substâncias estabilizadoras que não alteram a eficácia do produto. Antes do envase, a vacina a granel é submetida ao teste de esterilidade.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Utilizar um ensaio imunológico com anticorpos específicos para cada tipo de vírus que compõe a vacina.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

A. Por *Infectividade em células*

O ensaio é baseado na visualização de áreas infectadas de uma monocamada de células MA-104, Vero ou outras células suscetíveis cultivadas em meio de cultura adequado e não deve ocorrer interferência ou potencialização entre os sorotipos presentes na vacina. O doseamento da vacina rotavírus é realizado em pelo menos três frascos de amostra e um frasco da vacina referência em triplicata para validar o ensaio. Caso a vacina possua mais que um sorotipo de rotavírus, calcular o título individualmente por um método que demonstre especificidade. Calcular o título da vacina por um método estatístico adequado e expressar em $\log_{10}$ $CCID_{50}$ (dose 50% infectante cultura de célula) por dose.

Para a determinação ser considerada válida, é necessário que (a) ao final do ensaio o controle de cultura de células apresente monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre os três frascos da vacina seja de, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$; (c) o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração estimada de vírus da vacina de referência para as três replicatas combinadas seja menor do que ± 0,3 log 10 $CCID_{50}$; (d) o efeito citopático (ECP) seja decrescente em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

O ensaio deve ser repetido se o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração combinada do vírus da vacina for maior do que ± 0,3 log 10 $CCID_{50}$ (ou valor equivalente expresso na unidade do método utilizado para o ensaio). Os dados gerados a partir de ensaios válidos devem ser combinados por métodos estatísticos adequados para calcular a concentração de vírus da amostra. O intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração de vírus combinados deve ser menor do que ± 0,3 log 10 $CCID_{50}$.

O título mínimo de cada sorotipo viral é fornecido pelo produtor à autoridade regulatória nacional, de acordo com a análise dos resultados dos estudos clínicos.

B. Por *Ensaio baseado na comparação da capacidade da vacina para produzir ARN viral*

Para cada lote utilizar pelo menos três frascos de amostra e um frasco da vacina referência em triplicata. Infectar culturas de células em placas de microtitulação com diluições seriadas da amostra em teste e da vacina de referência. Após incubação para permitir a replicação do vírus, o ARN viral nos poços individuais é liberado a partir das células e quantificado por *Técnicas de amplificação de ácidos nucléicos* **(5.5.1.10)**, como a reação quantitativa em tempo real da transcriptase reversa da polimerase em cadeia (RT-PCR). Calcular a concentração de vírus individual para cada recipiente de vacina contra a preparação de referência, bem como as concentrações combinadas de vírus correspondentes, utilizando método estatístico adequado. A estimativa combinada da concentração de vírus para os três frascos de vacina não pode ser menor do que o indicado no rótulo.

Para a determinação ser considerada válida, é necessário que (a) o controle negativo deve se mostrar inequivocamente negativo; (b) o controle positivo deve mostrar reação positiva; (c) no controle de

células não devem ser observadas alterações nas células não-infectadas; (d) no controle de células contaminadas com ARN viral deve haver detecção positiva; (e) as curvas de dose-resposta devem resultar em uma inclinação significativa e sem desvios significativos de linearidade ou paralelismo.

O ensaio deve ser repetido se o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração combinada do vírus da vacina for maior do que ± 0,3 log 10 $CCID_{50}$ (ou valor equivalente expresso na unidade do método utilizado para o ensaio). Os dados gerados a partir de ensaios válidos devem ser combinados por métodos estatísticos adequados para calcular a concentração de vírus da amostra. O intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração de vírus combinados deve ser menor do que ± 0,3 log 10 $CCID_{50}$.

O título mínimo de cada sorotipo viral é fornecido pelo produtor à autoridade regulatória nacional, de acordo com a análise dos resultados dos estudos clínicos.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo à *Doseamento*. Incubar a amostra da vacina a 37 °C, por sete dias, e analisar conforme metodologia descrita para a potência do produto. A vacina pode perder, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$/dose, em relação ao título da vacina conservada em condições adequadas de temperatura. A vacina em teste não pode apresentar título inferior ao especificado para a potência do produto.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA RUBÉOLA (ATENUADA)
Vaccinum rubellae vivum

vacina rubéola (atenuada); 09054

A vacina é constituída de vírus vivos atenuados e apresentada sob a forma liofilizada. Após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de vírus utilizada ou cinco lotes consecutivos da vacina, não podem induzir neuropatogenia em macacos suscetíveis ao vírus da rubéola. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano. A replicação do vírus é realizada em cultura de células suscetíveis e a suspensão viral é identificada e controlada quanto à esterilidade. Após a clarificação da suspensão viral, por método adequado para remover resíduos celulares, algumas substâncias estabilizadoras, que, comprovadamente, não alteram a eficácia, nem a segurança do produto, são adicionadas. Antes do envase e liofilização, o produto é analisado quanto à esterilidade, concentração de vírus e proteínas derivadas do soro animal utilizado no cultivo.

O produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas a critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e adicionar a igual volume de soro contendo anticorpos neutralizantes para o vírus da rubéola. Incubar por 90 minutos à temperatura de 4 °C a 8 °C. Após a incubação, inocular a mistura da vacina com o soro, em cultura de células suscetíveis e manter por 12 dias à temperatura de 32 °C a 33 °C. Como controle, uma cultura de células inoculada com o vírus vacinal e outra não-inoculada, respectivamente, têm que apresentar presença e ausência de efeito citopatogênico (ECP). A ausência de ECP na cultura de célula identifica o vírus vacinal.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano.* No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder ao abrigo da luz direta. Diluir em intervalos de, no máximo, 1,0 $\log_{10}$, duas amostras da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência, em meio de cultura adequado. Inocular

cada diluição em, pelo menos, 10 orifícios de microplaca contendo células RK-13 em suspensão e incubar à temperatura de 32 °C a 33 °C por 12 dias. Observar a presença ou ausência de ECP nas culturas de células. Calcular o título da vacina por método estatístico validado. A potência da vacina é o valor da média geométrica dos frascos analisados, expresso em $CCID_{50}$ (dose 50% infectante em cultura de célula) por dose. Para que a determinação seja considerada válida, é necessário que: (a) o controle de cultura de células apresente monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as duas amostras da vacina seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$; (c) a potência da vacina de referência não varie mais que 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ do seu título médio; (d) o ECP seja decrescente, em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

A potência é de, no mínimo, 10^3 $CCID_{50}$/dose. Caso a amostra não cumpra os requisitos, repetir o teste. A potência é a média das duas determinações realizadas. O método de unidades formadoras de "plaque" (UFP) também pode ser empregado e seu valor de potência para aprovação do produto tem que estar correlacionado com o de $CCID_{50}$.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar amostra à temperatura de 37 °C por sete dias e proceder conforme estabelecido em *Doseamento*. A vacina pode perder, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ $CCID_{50}$, em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas. Além disso, não pode ter título inferior ao preconizado para aprovação do *Doseamento*. Caso não cumpra o requisito, repetir o teste e o título final é a média dos dois ensaios realizados.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA SARAMPO (ATENUADA)
Vaccinum morbillorum vivum

vacina sarampo (atenuada); 09056

A vacina é constituída de vírus vivos atenuados e apresentada sob a forma liofilizada. Após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de vírus utilizada, ou cinco lotes consecutivos da vacina, não podem induzir neuropatogenia em macacos suscetíveis ao vírus do sarampo. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano. A replicação do vírus é realizada em cultura de células suscetíveis e a suspensão de vírus é identificada e controlada quanto à esterilidade. Após a clarificação da suspensão viral por método adequado para remoção de resíduos celulares, algumas substâncias estabilizadoras, que comprovadamente não alteram a eficácia, nem a segurança do produto, são adicionadas. Antes do envase e liofilização, o produto é analisado quanto à esterilidade, concentração de vírus e de proteínas derivadas do soro animal.

O produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e adicionar igual volume de soro contendo anticorpos neutralizantes para o vírus do sarampo. Incubar a 36 °C por uma hora. Após a incubação, inocular a mistura em cultura de células suscetíveis e manter à temperatura de 36 °C por sete dias. Utilizar como controles uma cultura de células inoculada com o vírus vacinal e outra não inoculada que apresentam, ao final do teste, presença e ausência de efeito citopatogênico (ECP), respectivamente. A ausência de ECP na cultura de células identifica o vírus vacinal.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder como descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder ao abrigo da luz direta. Diluir duas amostras da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência em intervalos de, no máximo, 1,0 $\log_{10}$, em meio de cultura adequado. Inocular

cada diluição em, pelo menos, 10 orifícios de microplaca contendo células Vero em suspensão. Incubar por sete a nove dias entre 35 °C e 37 °C. As culturas de células são observadas quanto à presença ou ausência de ECP, e o título da vacina é calculado segundo o método estimativo de Spearman & Karber. A potência da vacina é o valor da média geométrica dos frascos analisados, expressa em $CCID_{50}$ (dose 50% infectante em cultura de célula) por dose.

Para que a determinação seja considerada válida é necessário que: (a) ao final do ensaio o controle de cultura de células apresente monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as duas amostras da vacina seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$; (c) a potência da vacina de referência varie, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ do seu título médio; (d) o ECP seja decrescente em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

A potência da vacina tem que ser, no mínimo, $10^{3,7}$ $CCID_{50}$/dose para a cepa Biken Cam 70 e $10^{3,0}$ $CCID_{50}$/dose para as demais cepas. Caso não cumpra os requisitos, repetir a determinação da potência e o resultado é a média geométrica dos dois ensaios realizados.

O método de unidades formadoras de "plaque" (UFP) pode ser, também, empregado e seu valor de potência para aprovação do produto tem que estar correlacionado com o de $CCID_{50}$.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar uma amostra da vacina entre 35 °C e 37 °C, por sete dias, e analisar conforme método descrito para o *Doseamento* do produto. A vacina pode perder, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura. Não pode apresentar título inferior ao especificado para a potência do produto.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA
Vaccinum parotiditis et rubellae et morbillorum vivum

vacina sarampo, caxumba, rubéola; 09055

A vacina é constituída da mistura dos vírus vivos atenuados da caxumba, da rubéola e do sarampo e apresentada sob a forma liofilizada. Após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

Cada componente viral presente na vacina é produzido em separado, conforme descrito nas monografias específicas.

O produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e adicionar igual volume da mistura de soros contendo anticorpos neutralizantes para os vírus da caxumba, da rubéola e do sarampo. Manter por 90 minutos à temperatura de 4 °C a 8 °C, inocular em cultura de células suscetíveis e manter por 10 dias. Como controle do teste, culturas de células inoculadas com: a vacina não-neutralizada com a mistura de soros contendo anticorpos para os três tipos de vírus e outra não-inoculada, devem apresentar presença e ausência de efeito citopatogênico, respectivamente. A ausência de ECP na cultura de células inoculadas com a mistura da vacina mais anticorpos, identifica o produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano.* No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder ao abrigo da luz direta. Diluir duas amostras da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência, em intervalos de, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ em meio de cultura adequado. Para titular cada tipo de vírus, adicionar a cada diluição da vacina, igual volume de antissoro específico heterólogo, conforme o esquema seguinte:

Vírus a titular	***Soro***
Caxumba	antissarampo
Rubéola	anticaxumba
Sarampo	anticaxumba

Manter as misturas por 90 minutos à temperatura de 4 °C a 8 °C, para a devida neutralização. Inocular cada diluição em 10 orifícios da microplaca contendo a suspensão de células suscetíveis. Para titulação do vírus da caxumba e do vírus do sarampo, a inoculação é realizada em células Vero, enquanto que, para a rubéola, em células RK-13. Incubar as microplacas contendo células Vero a 36 °C por 10 dias e as microplacas contendo células RK-13 à temperatura de 32 °C a 33 °C por 12 dias. Observar as culturas de células quanto à presença ou ausência de ECP e calcular os títulos de cada vírus presente na vacina, segundo um método estatístico validado. A potência de cada vírus é o valor da média geométrica dos frascos analisados, expressa em $CCID_{50}$ (dose 50% infectante em cultura de célula) por dose. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que: (a) ao final do ensaio, o controle de cultura de células apresente monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as duas amostras da vacina seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ para cada tipo de vírus; (c) a variação do título da vacina de referência seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ do seu título médio para cada tipo de vírus; (d) o ECP seja decrescente em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

A potência da vacina é, no mínimo, $10^{3,7}$ $CCID_{50}$/dose para o vírus da caxumba e 10^3 $CCID_{50}$/dose para os vírus do sarampo e da rubéola. Caso o produto não cumpra os requisitos de potência, o ensaio é repetido para o(s) tipo(s) de vírus em que não foi obtido o título limite para aprovação. A potência da vacina é a média geométrica dos dois ensaios realizados.

O método de unidades formadoras de "plaque" (UFP) também pode ser empregado, e o valor de potência para aprovação do produto tem que estar correlacionado com o de $CCID_{50}$.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar uma amostra da vacina a 37 °C por sete dias e analisar conforme metodologia descrita para a potência do produto. A vacina pode perder, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ $CCID_{50}$/dose, em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura, para cada tipo viral. Além disso, não pode ter título inferior ao estabelecido para aprovação do *Doseamento*. Caso não cumpra os requisitos, repetir o teste e o título final é a média dos dois testes realizados.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA E VARICELA (ATENUADA)

Vaccinum parotiditis et rubellae et morbillorum et varicellae vivum

A vacina é constituída de mistura dos vírus vivos atenuados da caxumba, rubéola, sarampo e varicela. É apresentada sob a forma liofilizada e, após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo surgir coloração devido à presença de indicador de pH.

Os componentes são produzidos conforme descrito nas monografias específicas.

As suspensões virais de cada componente são misturadas e o produto a granel é submetido ao controle de esterilidade.

O produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e misturar com anticorpos específicos para os vírus da caxumba, rubéola, sarampo e varicela. Quando a vacina é misturada com quantidades de anticorpos suficientes para neutralizar três componentes, o quarto componente deve apresentar ECP na cultura de células suscetíveis.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. O limite máximo deve garantir que o produto mantenha sua estabilidade, de acordo com o registro submetido à autoridade regulatória nacional.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

DOSEAMENTO

As linhagens celulares e antissoros específicos devem assegurar que a potência de cada vírus seja determinada sem interferência dos outros três componentes. Diluir pelo menos três frascos da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência em duplicata, em intervalos de, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ em meio de cultura adequado.

Proceder conforme descrito nas monografias de *Vacina sarampo, caxumba, rubéola (atenuada)* e *Vacina varicela (atenuada)*. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que**:** (a) o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração estimada da vacina de referência para a duplicata combinada seja menor do que ± 0,3 $\log_{10}$ $CCID_{50}$; (b) a potência da vacina de referência varie no máximo 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ para os vírus do sarampo, caxumba e rubéola e 0,5 $\log_{10}$ UFP para o vírus da varicela, do seu título estabelecido.; (c) o número de $CCID_{50}$ seja decrescente em relação às diluições crescentes.

O ensaio deve ser repetido se o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração combinada da concentração viral da vacina for maior do que 0,3 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ (sarampo, caxumba, rubéola) e 0,3 $\log_{10}$ UFP (varicela); os dados obtidos dos ensaios válidos somente podem ser combinados por métodos estatísticos adequados para calcular a concentração viral da amostra. O intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração combinada deve ser no máximo 0,3 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ (sarampo, caxumba, rubéola) e 0,3 $\log_{10}$ UFP (varicela). Outros métodos de ensaio podem ser utilizados, desde que justificados e aprovados pelas autoridades regulatórias nacionais. No entanto, caso a vacina seja dosada pelo método descrito acima, deve cumprir com os requisitos já estabelecidos.

A potência da vacina é, no mínimo, $10^{3,7}$ $CCID_{50}$/dose para o vírus da caxumba e $10^{3,0}$ $CCID_{50}$/dose para os vírus do sarampo e da rubéola. A concentração mínima do vírus da varicela deve ser aprovada pelas autoridades regulatórias, de acordo com os estudos de eficácia e segurança descritos no registro da vacina.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado para os componentes**:** sarampo**;** caxumba e rubéola em paralelo ao *Doseamento*. Incubar uma amostra da vacina a 37 ºC por sete dias e analisar conforme método descrito para a potência do produto. A vacina pode perder no máximo 1 $\log_{10}$ $CCID_{50}$/dose, em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura, para cada tipo viral. Além disso, não pode ter título inferior ao estabelecido para aprovação da determinação da potência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA SARAMPO, RUBÉOLA
Vaccinum rubellae et morbillorum vivum

vacina sarampo, rubéola; 09057

A vacina é constituída de mistura dos vírus vivos atenuados da rubéola e do sarampo e apresentada sob a forma liofilizada. Após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

Cada componente viral presente na vacina é produzido em separado, conforme descrito nas monografias específicas. O produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e adicionar igual volume de mistura de soros contendo anticorpos neutralizantes para os vírus da rubéola e do sarampo. Manter por 90 minutos à temperatura de 4 °C a 8 °C. Inocular em cultura de células suscetíveis e manter por 10 dias. Como controle do teste, cultura de células, inoculada com a vacina não neutralizada com a mistura de soros contendo anticorpos, para os dois tipos de vírus, e outra não inoculada, devem apresentar presença e ausência de efeito citopatogênico (ECP), respectivamente. A ausência de ECP na cultura de células inoculadas com a mistura da vacina mais anticorpos identifica o produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder ao abrigo da luz direta. Diluir duas amostras da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência, em intervalos de, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ em meio de cultura adequado.

Inocular cada diluição em 10 orifícios da microplaca contendo a suspensão de células suscetíveis. Para titulação do vírus do sarampo a inoculação é realizada em células Vero, enquanto que, para a rubéola, em células RK-13. Incubar as microplacas contendo células Vero a 36 °C por 10 dias e as microplacas contendo células RK-13 à temperatura de 32 °C a 33 °C por 12 dias. Observar as culturas de células quanto à presença ou ausência de ECP e calcular os títulos de cada vírus presente na vacina, segundo um método estatístico validado.

A potência de cada vírus é o valor da média geométrica dos frascos analisados, expressa em $CCID_{50}$ (dose 50% infectante em cultura de célula) por dose. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que: (a) ao final do ensaio o controle de cultura de células apresente monocamada

inalterada; (b) a variação de potência entre as duas amostras da vacina seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ para cada tipo de vírus; (c) a variação do título da vacina de referência seja, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ $CCID_{50}$ do seu título médio para cada tipo de vírus; (d) o ECP seja decrescente em relação às diluições crescentes; (e) as diluições utilizadas no ensaio estejam entre 10% e 90% das culturas de células inoculadas.

A potência da vacina é, no mínimo, $10^{3,7}$ $CCID_{50}$/dose para a cepa Biken Cam 70 e 10^3 $CCID_{50}$/dose para as demais cepas do vírus do sarampo e da rubéola. Caso o produto não cumpra os requisitos de potência, o ensaio é repetido para o(s) tipo(s) de vírus em que não foi obtido o título limite para aprovação. A potência da vacina é a média geométrica dos dois ensaios realizados.

O método de unidades formadoras de "plaque" (UFP) pode, também, ser empregado e o valor de potência para aprovação do produto tem que estar correlacionado com o de $CCID_{50}$.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar uma amostra da vacina à 37 °C por sete dias e analisar conforme metodologia descrita para a potência do produto. A vacina pode perder, no máximo, 1,0 $\log_{10}$ $CCID_{50}$/dose, em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura, para cada tipo viral. Além disso, não pode ter título inferior ao estabelecido para aprovação do *Doseamento*. Caso não cumpra os requisitos, repetir o teste. O título final é a média dos dois testes realizados.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA VARICELA (ATENUADA)
Vaccinum varicellae vivum

A vacina é constituída de vírus vivos atenuados da varicela e apresentada sob a forma liofilizada. Após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea, transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de vírus utilizada na produção da vacina tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano, e não pode induzir neuropatogenia em macacos suscetíveis ao vírus da varicela.

A replicação do vírus é realizada em cultura de célula diploide humana suscetível e a suspensão viral é submetida aos testes de identificação, esterilidade, concentração viral e agentes adventícios. Após a clarificação da suspensão viral por método adequado para remoção de resíduos celulares, podem ser adicionadas algumas substâncias estabilizadoras que comprovadamente não alteram a eficácia e segurança do produto. O produto clarificado é submetido aos controles de identificação e concentração viral.

Antes do envase e liofilização, o produto é analisado quanto à esterilidade. O produto é então envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

A vacina, quando neutralizada com soro contendo anticorpo específico para o vírus da varicela, inibe a formação de unidades formadoras de "plaque" (UFP) em células suscetíveis conforme descrito em *Doseamento*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. O limite máximo deve garantir que o produto mantenha sua estabilidade, de acordo com o registro submetido à autoridade regulatória nacional.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Pelo menos três frascos de vacina liofilizada e um de vacina referência são submetidos ao método de unidades formadoras de "plaque" (UFP). A concentração viral da vacina de referência é estabelecida com base em dados históricos de cada laboratório e deve ser monitorada por gráfico controle. Diluir as amostras da vacina e inocular em placas ou frascos contendo monocamada de cultura de célula diploide humana suscetível.

Calcular a concentração viral individual para cada frasco de vacina e para cada replicata da vacina de referência por métodos estatísticos validados, a qual é expressa em $\log_{10}$ UFP/dose. Para a determinação ser considerada válida é necessário que (a) o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração estimada da vacina de referência para as três replicatas combinadas seja menor do que ± 0,3 $\log_{10}$ UFP; (b) a potência da vacina de referência varie, no máximo, 0,5 $\log_{10}$ UFP do seu título estabelecido.

O ensaio deve ser repetido se o intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração viral combinada da vacina for maior do que ± 0,3 $\log_{10}$ UFP; dados obtidos dos ensaios válidos somente podem ser combinados por métodos estatísticos adequados para calcular a concentração viral da amostra. O intervalo de confiança (P = 0,95) da concentração viral combinada é, no máximo, ± 0,3 $\log_{10}$ UFP.

Outros métodos de ensaio podem ser utilizados, desde que justificados e aprovados pelas autoridades regulatórias nacionais. No entanto, caso a vacina seja dosada pelo método descrito acima, deve cumprir com os requisitos já estabelecidos.

A potência mínima deve ser aprovada pelas autoridades regulatórias, de acordo com os estudos de eficácia e segurança descritos no registro da vacina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINAS PARA USO HUMANO
Vaccina ad usum humanum

As vacinas para uso humano são medicamentos, via de regra, de caráter profilático, capazes de induzir imunidade específica diante de um agente infeccioso. Sua eficácia e segurança devem ser comprovadas por meio de estudos aprovados pela autoridade nacional de controle de qualidade.

As vacinas podem ser constituídas por micro-organismos inativados, micro-organismos atenuados, substâncias por eles produzidas e frações antigênicas. Os métodos empregados para preparação de vacinas dependem de cada tipo de produto e devem obedecer normas de boas práticas de fabricação de produtos farmacêuticos.

Durante os processos de produção das vacinas, algumas substâncias, como estabilizantes, adjuvantes e conservantes, podem ser adicionadas. No produto final, concentrações muito baixas de antibióticos são permitidas, com exceção de estreptomicina e de penicilina e seus derivados. Se soro de origem animal for utilizado no processo de produção, o produto final não pode ter mais que 50 ng/dose de proteínas derivadas do soro. Pode empregar albumina humana, desde que comprovada a ausência de anticorpos para hepatite B, hepatite C e HIV 1 e 2.

VACINAS BACTERIANAS

As vacinas bacterianas são produzidas em meios líquidos ou sólidos, utilizando cepas adequadas de bactérias inativadas, bactérias atenuadas (vivas) ou seus componentes antigênicos. Apresentam-se sob a forma de um líquido incolor ou com diferentes graus de opacidade ou liofilizadas.

Para a preparação dessas vacinas podem ser utilizadas tanto a totalidade dos micro-organismos cultivados em meios de cultura adequados, quanto frações desses agentes microbianos. As vacinas inativadas devem ser preparadas por métodos físicos ou químicos, que não destruam sua capacidade antigênica, enquanto vacinas de bactérias vivas são produzidas com cepas atenuadas, capazes de induzir imunidade diante de micro-organismo da mesma espécie ou de espécie antigenicamente relacionada.

TOXOIDES BACTERIANOS

Os toxoides bacterianos são toxinas destoxificadas por tratamentos físico-químicos, que apesar de perderem sua capacidade tóxica, mantêm a atividade imunogênica. A produção se baseia no sistema de lote-semente de cepas de micro-organismos específicos, cultivados em meios de cultura livres de substâncias que possam causar efeitos tóxicos, alérgicos e outras reações indesejáveis ao ser humano.

Os toxoides podem ser apresentados sob a forma líquida ou liofilizada e, em ambos os casos, podem ser purificados ou adsorvidos. Os adsorvidos se apresentam sob a forma de suspensão opalescente de coloração branca ou ligeiramente acastanhada e podem formar sedimento no fundo do recipiente de envase.

VACINAS VIRAIS

As vacinas virais consistem em suspensão de vírus atenuados, inativados ou frações deles, podendo apresentar-se sob a forma liofilizada ou suspensão. Concentrações muito baixas de antibióticos

podem estar presentes, exceto estreptomicina, penicilina e seus derivados. O produto pode conter, no máximo, 50 ng/dose de proteínas derivadas do soro de origem animal. Pode empregar albumina humana, desde que comprovada a ausência de anticorpos para hepatite B, hepatite C e HIV 1 e 2.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de vírus utilizada deve demonstrar imunogenicidade adequada, bem como ser segura ao ser humano. A replicação da cepa viral vacinal é obtida em sistema hospedeiro (animais, embriões de aves ou cultura de células) apropriado e as metodologias de produção estão indicadas nas monografias de cada produto.

No caso de utilização de cultura de células de mamíferos para replicação do vírus vacinal, separar para controle 5% ou 500 mL, o que for maior em volume. Ao final da produção da vacina, essas culturas de células não podem apresentar efeito citopatogênico (ECP). Além disso, alíquotas do meio de crescimento são inoculadas em meios de cultura apropriados, a fim de comprovar ausência de micro-organismos contaminantes (fungos, bactérias e micoplasmas). As células devem demonstrar, também, ausência de outros agentes contaminantes, principalmente vírus provenientes da espécie animal da qual a cultura de célula foi derivada, por meio de ensaio de hemadsorção com hemácias de cobaias e inoculação em culturas de células, animais de laboratório e ovos embrionados.

Caso a cultura de célula utilizada seja de linhagem primária de embrião de aves, além dos controles mencionados no parágrafo anterior, as granjas fornecedoras dos ovos devem demonstrar condições adequadas de produção em ambientes isentos de patógenos específicos. Regularmente, as aves são monitoradas quanto a infecções causadas por retrovírus, vírus de Newcastle, vírus parainfluenza, vírus da varíola, vírus da encefalomielite, vírus da laringotraqueíte, vírus da reticuloendoteliose, vírus de Marek, adenovírus, vírus influenza, micobactérias, *Haemophilus paragallinarum, Salmonella gallinarum, Salmonella pullorum, Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae* dentre outros agentes patogênicos de aves.

No caso da cultura de célula utilizada ser de linhagem primária de rim de coelho (*Oryctolagus cuniculus*), além dos controles mencionados no terceiro parágrafo, os coelhos devem ser criados em condições adequadas de controle microbiológico e monitorados regularmente quanto a infecções causadas por fungos, bactérias e vírus, como: coccidiose, mixomatose, varíola, fibromatose, herpesvírus, tuberculose, *Nosema cuniculi*, toxoplasmose, dentre outras infecções causadas por micro-organismos que ocorrem naturalmente em coelhos. Enquanto que, para utilização de cultura de células de linhagem primária de rim de macaco, os animais têm que ser saudáveis e nunca terem sido utilizados para outras finalidades. Os animais, antes de terem seus rins retirados, devem ser mantidos em quarentena por período de, no mínimo, seis semanas e demonstrar estar livres de anticorpos para o vírus B (*herpes vírus*) e para o vírus da imunodeficiência.

Se são utilizadas células diploides humanas ou células de linhagem contínua, elas têm que ser procedentes de um banco de células certificado pela autoridade do controle nacional e demonstrar ausência de micro-organismos contaminantes, conforme descrito no terceiro parágrafo. Não podem ser tumorogênicas e são identificadas quanto à espécie de origem. O número de passagens das células diploides humanas não pode ultrapassar a dois terços de seu número máximo de passagem e seu cariótipo tem que ser normal. Quando a vacina é produzida em células de linhagem contínua, o "pool" de vírus deve ser purificado por um processo que comprove que no produto final o ADN residual é inferior a 100 pg por dose.

O soro e a tripsina empregados no preparo da cultura de célula devem ser isentos de micro-organismos contaminantes (bactérias, fungos, micoplasmas e vírus). Além disso, o soro deve ser procedente de rebanhos com certificados de ausência de encefalopatia espongiforme bovina.

VACINAS COMBINADAS

As vacinas combinadas constituem-se de mistura de dois ou mais antígenos diferentes e podem ser apresentadas sob a forma liofilizada ou de suspensão. Estes imunobiológicos podem possuir, em sua formulação, micro-organismos atenuados, micro-organismos inativados, substâncias produzidas por eles e frações antigênicas. O processo de produção e controle da qualidade deve obedecer ao mencionado na monografia específica de cada produto presente nesta vacina.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito na monografia específica.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito na monografia específica.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio

A. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção no visível* **(5.2.14)**.

Tampão acetato: dissolver 27,5 g de acetato de amônio em 50 mL de água purificada e adicionar 0,5 mL de ácido clorídrico a 25% (p/v). Completar o volume para 100 mL com água purificada.

Tampão carbonato: dissolver 20 g de carbonato de amônio em 20 mL de solução diluída de amônia (diluir 17,5 mL de hidróxido de amônio a 10% (p/v) com 32,5 mL de água purificada) e completar o volume para 100 mL com água purificada.

Transferir para balão de Kjeldahl, 1 mL da amostra e adicionar 2 mL de ácido nítrico. Digerir a mistura até que a solução fique límpida. Transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Tampão acetato*. Transferir 2 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 2 mL de solução recém-preparada de ácido tioglicólico a 1% (v/v). Deixar em repouso por dois minutos, adicionar 15 mL do reagente de aluminon e aquecer em banho-maria (100 °C) por 15 minutos. Resfriar, adicionar 10 mL de *Tampão carbonato* e completar o volume com água purificada. Preparar branco contendo água no lugar da amostra. As leituras da amostra e dos padrões são realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 530 nm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular a concentração de alumínio (III) na amostra, por interpolação gráfica ou regressão linear. O resultado deve ser expresso em mg de alumínio (III) por dose.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Transferir para balão de Kjeldahl, 2 mL da amostra e adicionar 4 mL de ácido nítrico. Digerir a mistura até que a solução fique límpida. Transferir para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água purificada. Em paralelo, preparar branco contendo água purificada no lugar da amostra e curva de calibração de alumínio com as concentrações de 20, 40, 60 e 80 ppm. Adicionar à amostra, às soluções para a curva de calibração e ao branco, determinada quantidade de supressor de ionização, de modo a conter, no final, concentração de 2000 ppm de potássio. Determinar a concentração de alumínio (III) na amostra, em espectrofotômetro de absorção atômica no comprimento de onda de 309,3 nm,

abertura da fenda 0,2 nm, corrente da lâmpada para alumínio de 10 mA e chama de óxido nitroso/acetileno.

Fenol. Diluir a amostra de modo que a concentração de fenol esteja entre 5 ppm e 30 ppm. Adicionar 5 mL de tampão borato pH 9,0, 5 mL da solução de 4-aminoantipirina a 0,1% (p/v) e 5 mL de solução aquosa de ferricianeto de potássio a 5% (p/v). Em paralelo, preparar branco e curva de calibração de fenol com concentrações variando de 5 ppm a 30 ppm. Proceder às leituras das absorvâncias da amostra e dos padrões no comprimento de onda de 546 nm, 10 minutos após o término da reação, utilizando o branco para zerar o aparelho. Utilizar a leitura dos padrões para construir a curva de calibração. Determinar a concentração de fenol na amostra por interpolação gráfica ou regressão linear. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Formaldeído residual. Adicionar a 1 mL da amostra, lentamente e com agitação, 3 mL de ácido tricloroacético a 2,5% (v/v). Deixar em repouso por cinco minutos, centrifugar a 2000 g por 10 minutos e transferir o sobrenadante para tubo de ensaio. Em paralelo, preparar curva de calibração de formaldeído com as concentrações de 2,5, 5, 7,5 e 10 mL/mL, sendo o volume de 4 mL/tubo. Preparar branco contendo água purificada no lugar da amostra. Adicionar 4 mL de reagente de Hantzach a cada um dos seis tubos de ensaio preparados anteriormente, deixar em banho-maria a 58 °C por cinco minutos e resfriar. Realizar, imediatamente, as leituras de absorvâncias da amostra e dos padrões, no comprimento de onda de 412 nm, utilizando o branco para zerar o aparelho. As leituras dos padrões são utilizadas para construção da curva de calibração. A concentração de formaldeído residual na amostra é determinada por interpolação gráfica ou regressão linear.

Nitrogênio proteico (5.3.3.2). Cumpre o teste.

Timerosal

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* **(5.2.14)**. Após rigorosa homogeneização da amostra, transferir 1 mL, em duplicata, para béqueres e adicionar 3 mL de água purificada (diluição 1:4), em seguida tomar 1 mL dessa solução e transferir para um tubo de digestão. Adicionar 1 mL de água purificada e 2 mL de uma mistura de igual volume de ácido sulfúrico R e ácido nítrico R. Levar a mistura à ebulição por 10 minutos. Resfriar. Adicionar 10 mL de água purificada e 2 mL de cloridrato de hidroxilamina a 50% (p/v). Levar novamente à ebulição por um minuto, resfriar e transferir o líquido para funil de separação, filtrando através de algodão. Lavar o tubo com 70 mL de água purificada e transferir da mesma maneira para o funil de separação. Adicionar 10 mL da solução de ditizona (1:7), agitar vigorosamente por um minuto. Deixar em repouso por um minuto, filtrar em algodão e recolher a fase orgânica (clorofórmica) em erlenmeyer. Proceder imediatamente a leitura do filtrado em espectrofotômetro a 490 nm. Preparo dos padrões e curva de calibração: Preparar uma solução estoque de timerosal (1200 µg/mL em timerosal ou 600 µg/mL em mercúrio). A partir desta solução, preparar as soluções padrão em balões volumétricos de 100 mL. Estabelecer a curva de calibração com concentrações de 6 µg Hg/mL a 24 µg Hg/mL. Após o preparo das soluções padrão, proceder como descrito para a amostra. O branco é preparado utilizando-se 2 mL de água purificada no lugar da amostra. Utilizar a leitura dos padrões para fazer uma curva de calibração e determinar a concentração de timerosal na amostra por interpolação gráfica ou regressão linear.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Transferir, quantitativamente, 1 mL da amostra para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 0,5 mL de ácido nítrico e completar o volume com água purificada. Preparar branco com água purificada. A partir de solução estoque de 1000 ppm de Hg, preparar um padrão intermediário de 1 ppm de Hg e deste retirar

alíquotas diferentes, de acordo com o intervalo de trabalho, transferindo-as para as células de reação, contendo solução de permanganato de potássio. Determinar a absorvância a 253,6 nm por vapor frio, em espectrofotômetro de absorção atômica, utilizando nitrogênio como gás de arraste.

Umidade residual. Transferir para pesa-filtro, previamente dessecado e tarado, 80 mg da amostra. Manter a amostra por três horas em atmosfera de pentóxido de fósforo anidro, sob pressão não superior a 5 mm de mercúrio, à temperatura de 60 °C. O pesa-filtro é resfriado por 20 minutos em dessecador contendo sílica-gel e imediatamente pesado. A etapa de aquecimento e resfriamento é repetida até obtenção de peso constante. O valor da umidade residual é a média do percentual de perda de peso de, não menos, que três avaliações da amostra. O método volumétrico para *Determinação de água* **(5.2.20.1)**, também pode ser utilizado.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Endotoxinas bacterianas. Proceder conforme descrito na monografia específica.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios. Proceder conforme descrito na monografia específica.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito na monografia específica.

TERMOESTABILIDADE

Proceder conforme descrito na monografia específica.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

A temperatura e o prazo de validade são indicados pelo fabricante da vacina, tendo como base evidências experimentais aprovadas pela autoridade regulatória nacional.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Hemocomponentes e Hemoderivados

Brasília
2019

HEMOCOMPONENTES E HEMODERIVADOS

COLA DE FIBRINA	HD001-00
COMPLEXO PROTROMBÍNICO HUMANO TOTAL LIOFILIZADO	HD002-00
FATOR IX DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO	HD003-00
FATOR VII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO	HD004-00
FATOR VIII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO	HD005-00
FIBRINOGÊNIO HUMANO LIOFILIZADO	HD006-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-D	HD007-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE A	HD008-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE B	HD009-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE B PARA USO INTRAVENOSO	HD010-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIRRÁBICA	HD011-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIRRUBÉOLA	HD012-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTISSARAMPO	HD013-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTITÉTANO	HD014-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIVARICELA	HD015-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIVARICELA PARA USO INTRAVENOSO	HD016-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL	HD017-00
IMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL PARA ADMINISTRAÇÃO POR VIA INTRAVENOSA	HD018-00
MISTURAS DE PLASMA HUMANO EXCEDENTE TRATADO POR INATIVAÇÃO VIRAL	HD019-00
MISTURAS DE PLASMA HUMANO TRATADO POR INATIVAÇÃO VIRAL	HD020-00
PLASMA HUMANO PARA FRACIONAMENTO	HD021-00
SOLUÇÃO DE ALBUMINA HUMANA	HD022-00

COLA DE FIBRINA
Fibrini glutinum

DEFINIÇÃO

Cola de fibrina é uma preparação farmacêutica, estéril e apirogênica, constituída por um conjunto contendo dois componentes: o componente 1 (concentrado de fibrinogênio), uma fração proteica que contém fibrinogênio humano e Fator XIII humano, e o componente 2, uma preparação que contém trombina humana; este último componente converte o primeiro em fibrina depois de sua reconstituição e mistura em presença de íons cálcio.

Pode conter outros ingredientes como a fibronectina humana e um inibidor de plasmina, como a aprotinina, e estabilizadores, como a albumina humana, adicionados antes ou durante a formação da fibrina induzida pela trombina. Nenhum antimicrobiano é adicionado à preparação.

Os constituintes são obtidos a partir do plasma humano, que cumpre os requisitos da monografia *Plasma humano para fracionamento.*

Descongelado ou reconstituído com o volume do diluente indicado no rótulo, o componente 1 contém, no mínimo, 40 g/L de proteínas coaguláveis; a atividade de trombina do componente 2 varia em um amplo intervalo (aproximadamente 4 - 1000 UI/mL).

PRODUÇÃO

Sua obtenção deve ser de acordo com o cumprimento das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos Biológicos e Boas Práticas do Ciclo Produtivo do Sangue, conforme a legislação vigente, visando garantir a sua qualidade, segurança e eficácia.

O método de preparação inclui uma ou várias etapas de inativação viral que demonstrem a eliminação ou inativação dos agentes infecciosos virais conhecidos. Caso sejam usadas substâncias para inativar os vírus durante a produção, o processo de purificação posterior deve demonstrar, mediante validação, que a concentração das substâncias inativadoras foi eliminada ou reduzida a níveis aceitáveis segundo normas vigentes e que os eventuais resíduos não possam vir a trazer riscos aos pacientes.

Os constituintes ou as suas misturas devem ser estéreis e apirogênicas, sendo então distribuídos assepticamente nos recipientes finais e imediatamente congelados. Os mesmos devem ser liofilizados e os recipientes fechados sob vácuo ou sob gás inerte de forma que se evite qualquer contaminação microbiana.

Caso o componente 1 contenha Fator XIII, a concentração deste último deverá ser, no máximo, 10 UI/mL. Caso o rótulo venha indicar que a atividade do Fator XIII da coagulação é maior que 10 UI/mL, a atividade estimada deve ser, no mínimo, 80% e, no máximo, 120% da atividade declarada no rótulo.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Os constituintes liofilizados são pós ou sólidos friáveis de cor branca ou amarelo pálido. Os constituintes congelados são sólidos opacos, incolores ou amarelo pálido. Os constituintes líquidos são incolores ou amarelo pálido.

COMPONENTE 1 (CONCENTRADO DE FIBRINOGÊNIO)

Nota: *reconstituir os constituintes liofilizados e descongelar os constituintes congelados como indicado no rótulo imediatamente antes de realizar a identificação e os ensaios, exceto os de solubilidade e água.*

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder aos ensaios de precipitação com a amostra do produto acabado, usando soros específicos de pelo menos quatro diferentes espécies animais e um soro anti-humano. O ensaio é realizado com soros específicos contra as proteínas plasmáticas das espécies animais que normalmente se usam no país para a preparação de produtos de origem biológica. A amostra contém somente proteínas de origem humana e não precipita com os soros específicos contra as proteínas plasmáticas de outras espécies animais, porém precipita diante do soro anti-humano.

B. A determinação do fibrinogênio, conforme descrito em *Doseamento*, contribui para a identificação do componente 1.

C. A determinação do Fator XIII, conforme descrito em *Doseamento*, contribui para a identificação do componente 1.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da preparação. Os concentrados liofilizados dissolvem-se em 20 minutos no volume do diluente para a sua reconstituição, à temperatura indicada no rótulo, resultando em uma preparação límpida ou ligeiramente turva, praticamente incolor.

pH (5.2.19). 6,5 a 8,0.

Estabilidade da dissolução. Durante os 120 minutos que seguem à reconstituição ou ao descongelamento não se forma nenhum gel, à temperatura ambiente.

Água. Determinar por um dos métodos a seguir: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou *Espectrofotometria de absorção no infravermelho próximo* **(5.2.14)**. No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Fibrinogênio (proteínas coaguláveis). A quantidade estimada de proteínas coaguláveis, expressa em miligramas é, no mínimo, 70% e, no máximo, 130% da quantidade declarada.

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. *Proteínas coaguláveis*. Dosar o nitrogênio no resíduo pelo método de *Determinação de nitrogênio* **(5.3.3.2)**. Misturar 0,2 mL da preparação reconstituída e 2 mL de uma solução tampão apropriada (pH 6,6 a 7,4) que contenha uma quantidade suficiente de trombina humana (aproximadamente 3 UI/mL) e cálcio (0,05 *M*). Manter a mistura a 37 °C durante 20 minutos, separar o precipitado por centrifugação (5000 × g, por 20 minutos) e lavar exaustivamente com uma solução de cloreto de sódio 0,9% (p/v). Dosar o nitrogênio no resíduo pelo método de *Determinação de nitrogênio* **(5.3.3.2)**. Calcular o teor em proteínas devendo ser o resultado multiplicado por 6.

B. *Teste de coagulação*. Diluir a preparação reconstituída com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração de fibrinogênio compreendida entre 0,1 mg/mL e 1 mg/mL. Utilizar 0,2 mL da diluição, mantendo a 37 °C durante 60 segundos e adicionar 0,2 mL de uma solução apropriada de trombina humana (aproximadamente 20 UI/mL e que contenha pelo menos 1 m*M* de cálcio). Determinar o tempo de coagulação por um método apropriado. Repetir o processo com pelo menos três diluições diferentes, no intervalo indicado anteriormente por meio de uma solução apropriada de fibrinogênio (por exemplo, plasma humano normal calibrado, por meio de uma determinação, diante de uma mistura de plasma recém preparada (> 100 doadores). Representar uma curva de calibração com os tempos de coagulação medidos para as diluições padrão e o conteúdo em fibrinogênio; a partir da curva, determinar o conteúdo de fibrinogênio na preparação a examinar.

Fator XIII. Onde o rótulo indicar que a atividade do Fator XIII da coagulação é maior que 10 UI/mL, a atividade estimada deve ser, no mínimo, 80% e, no máximo, 120% da atividade declarada no rótulo.

Fazer três diluições do componente 1 descongelado ou reconstituído e da preparação de referência de plasma humano normal, usando como diluente plasma deficiente em Fator XIII da coagulação ou outro diluente apropriado. Adicionar a cada diluição quantidades apropriadas dos seguintes reagentes:

Reagente ativador: contendo trombina humana ou bovina, tampão apropriado, cloreto de cálcio e um inibidor apropriado tal como Gli-Pro-Arg-Ala-Ala-NH_2, que inibirá a coagulação da amostra e não evitará a ativação do Fator XIII pela trombina.

Reagente de detecção: contendo substrato peptídico específico de Fator XIII ativado tal como Leu-Gli-Pro-Gli-Glu-Ser-Lis-Val-Ile-Gli-NH_2 e éster de etil glicina como segundo substrato em solução tampão adequada.

Reagente NADH: contendo glutamato desidrogenase, α-cetoglutarato e NADH em solução tampão adequada.

Após a mistura, são mensuradas as variações de absorvância (ΔA/minutos) no comprimento de onda de 340 nm **(5.2.14)** após ser atingida a fase linear da reação. A unidade de Fator XIII é igual à atividade de 1 mL de plasma humano normal. Calcular a atividade da preparação teste através de métodos estatísticos usuais **(8.2)**. Os limites de confiança (P = 0,95) devem ser, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

COMPONENTE 2 (PREPARAÇÃO DE TROMBINA)

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder aos ensaios de precipitação com a amostra do produto acabado, usando soros específicos de pelo menos quatro diferentes espécies animais e um soro anti-humano. O ensaio é realizado com soros específicos contra as proteínas plasmáticas das espécies animais que normalmente se usam no

país para a preparação de produtos de origem biológica. A amostra contém somente proteínas de origem humana e não precipita com os soros específicos contra as proteínas plasmáticas de outras espécies animais, porém precipita diante do soro anti-humano.

B. A determinação da trombina, conforme descrito em *Doseamento*, contribui para a identificação do componente 2.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da preparação. Os concentrados liofilizados dissolvem-se, em cinco minutos, no volume de diluente para a sua reconstituição, à temperatura indicada no rótulo, resultando em uma preparação incolor e límpida ou ligeiramente turva.

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0.

Água. Determinar por um dos métodos a seguir: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou *Espectrofotometria de absorção no infravermelho próximo* **(5.2.14)**. No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Trombina. Se necessário, diluir a preparação reconstituída a ser examinada a aproximadamente 2 - 20 UI por mililitro de trombina usando como diluente um tampão pH 7,3 a 7,5, tal como a solução tampão de imidazol pH 7,3, contendo 10 g/L de albumina humana ou albumina bovina. A um volume adequado da diluição, adicionar volume apropriado de fibrinogênio (1 g/L de proteína coagulada) aquecido a 37 °C e começar a medir o tempo de coagulação imediatamente. Repetir o procedimento com cada uma das três diluições de uma preparação de referência de trombina calibrada em unidades internacionais. Calcular a atividade da preparação teste por meio de métodos estatísticos usuais **(8.2)**. Os limites de confiança (P = 0,95) devem ser, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

ARMAZENAMENTO

Protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. O rótulo deve indicar:

- a quantidade de fibrinogênio (miligramas de proteínas coaguláveis) e de trombina (Unidades Internacionais) por frasco;
- a atividade de Fator XIII (unidades) quando superior a 10 UI/mL;
- quando aplicável, o volume de diluente necessário para reconstituir a preparação.

COMPLEXO PROTROMBÍNICO HUMANO TOTAL LIOFILIZADO

Prothrombinum multiplex total humanum cryodesiccatus

O complexo protrombínico humano total é uma fração de proteínas plasmáticas que contém, obrigatoriamente, os Fatores II, VII, IX e X da coagulação humana. A presença e as quantidades dos Fatores II, VII e X dependem do método de fracionamento utilizado e sua obtenção é realizada a partir do plasma humano que satisfaça as condições da monografia *Plasma humano para fracionamento.*

A atividade da preparação, reconstituída de acordo com as indicações que figuram no rótulo, é, no mínimo, 20 UI de Fator IX por mililitro. Se o conteúdo de algum fator de coagulação estiver declarado em valor unitário, a potência estimada deve estar entre 80% e 125% da potência declarada; se o conteúdo de algum fator estiver declarado em intervalo, a potência estimada deve estar dentro dos limites mínimo e máximo declarados.

O método de preparação deve evitar, tanto quanto possível, a ativação dos fatores da coagulação, de modo a reduzir seu potencial trombogênico, e compreende uma ou várias etapas que demonstrem a eliminação ou inativação dos agentes infecciosos conhecidos e não conhecidos. Se forem acrescentadas substâncias para inativação viral na etapa de produção, um procedimento de purificação deve ser validado, de modo a demonstrar que a concentração dessas substâncias foi reduzida a um nível aceitável, e que tais resíduos não comprometem a segurança da preparação.

A atividade específica é, no mínimo, 0,6 UI do Fator IX por miligrama de proteínas totais, antes da eventual adição de um estabilizante proteico. A fração que contém o complexo protrombínico é dissolvida em diluente apropriado. Podem ser adicionadas heparina, antitrombina e outras substâncias auxiliares, como um estabilizante. Não deve ser adicionado nenhum conservante antimicrobiano. A solução sofre uma filtração esterilizante e depois é envasada, assepticamente, nos recipientes e, imediatamente, congelada. Em seguida é liofilizada e os recipientes são fechados a vácuo ou em presença de um gás inerte.

Nota: *reconstituir a amostra como indicado no rótulo imediatamente antes de realizar a Identificação, os ensaios (exceto os de solubilidade e de teor de água) e o Doseamento.*

IDENTIFICAÇÃO

A amostra satisfaz os limites estabelecidos em *Doseamento* para os Fatores II, VII, IX e X da coagulação sanguínea humana.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Pó ou sólido friável, branco ou ligeiramente corado, muito higroscópico.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,5.

Solubilidade. Adicionar o volume do líquido diluente especificado no rótulo, observando a temperatura recomendada. Agitar suavemente por, no máximo, 10 minutos. A preparação dissolve-se completamente e observa-se a formação de uma solução que pode ser levemente corada.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um dos métodos a seguir: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Determinação da perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. O teor de água deve ser inferior a 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de peso corporal, um volume da amostra reconstituída correspondente a, pelo menos, 30 UI de Fator IX.

DOSEAMENTO

Fator IX

Proceder conforme descrito em *Determinação do Fator IX da coagulação sanguínea humana* **(5.5.1.4)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125%.

Fator II

Proceder conforme descrito em *Determinação do Fator II da coagulação sanguínea humana* **(5.5.1.3)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada está compreendido entre 90% e 111%.

Fator VII

Proceder conforme descrito em *Determinação do Fator VII da coagulação sanguínea humana* **(5.5.1.5)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada está compreendido entre 80% e 125%.

Fator X

Proceder conforme descrito em *Determinação do Fator X da coagulação sanguínea humana* **(5.5.1.6)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada está compreendido entre 90% e 111%.

Fatores da coagulação ativados

Proceder conforme descrito em *Determinação dos fatores da coagulação ativados* **(5.5.1.8)**. Se necessário, diluir a amostra para obter uma solução que contenha 20 UI de Fator IX por mililitro. Para cada uma das diluições, o tempo de coagulação é, no mínimo, 150 segundos.

Heparina

Caso se tenha adicionado heparina durante a preparação, determinar o seu teor de acordo com o método *Determinação da heparina nos fatores da coagulação* **(5.5.1.1)**. A amostra não contém mais

que a quantidade de heparina indicada no rótulo e nunca contém mais de 0,5 UI de heparina por unidade internacional de Fator IX.

Proteínas totais

Se necessário, deve-se diluir a preparação reconstituída com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de forma a obter-se uma solução que contenha cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. Em um tubo de centrífuga de fundo redondo, introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de solução de molibdato de sódio a 75 g/L e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico isento de nitrogênio e água (1:30). Agitar e centrifugar durante cinco minutos. O líquido sobrenadante deve ser decantado possibilitando que o tubo seja enxuto sobre um papel de filtro. Determinar o nitrogênio no resíduo pelo método de *Determinação de nitrogênio* **(5.3.3.2)**. Calcular o teor em proteínas devendo ser o resultado multiplicado por 6,25.

Trombina

Caso a amostra contenha heparina, determinar o seu teor como indicado no *Ensaio biológico da heparina* e neutralizá-la por adição de sulfato de protamina (10 µg de sulfato de protamina neutralizam 1 UI de heparina). Utilizar dois tubos de ensaio e, em cada um, misturar volumes iguais da amostra reconstituída de uma solução de fibrinogênio a 3 g/L. Manter um dos tubos a 37 °C durante seis horas e o outro à temperatura ambiente durante 24 horas. Num terceiro tubo, misturar volumes iguais da solução de fibrinogênio e de solução de trombina humana a 1 UI/mL e colocar o tubo em banho-maria a 37 °C. Não se produz coagulação nos tubos que contêm a amostra. Produz-se coagulação dentro de 30 segundos no tubo que contém a trombina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve declarar:

- a denominação: complexo protrombínico total;
- o número de Unidades Internacionais dos Fatores IX, VII e X e o número ou intervalo de Unidades Internacionais do Fator II por frasco;
- a quantidade de proteínas em cada recipiente;
- o nome e a quantidade de qualquer substância adicionada, compreendendo a heparina e trombina, se esse for o caso;
- o nome e o volume do diluente necessário para reconstituir a preparação.

FATOR IX DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO

Fator IX coagulationis sanguinis humanus cryodesiccatus

fator IX de coagulação; 03806

O fator IX de coagulação sanguínea de origem humana liofilizado é a fração proteica do plasma que contém o fator IX de coagulação sanguínea de origem humana, obtido por um método que permite a separação do fator IX dos outros fatores do complexo protrombínico humano (Fatores II, VII e X). É preparado a partir de plasma humano, de acordo com a monografia *Plasma humano para fracionamento.* A atividade da preparação, reconstituída de acordo com as indicações que figuram no rótulo, é de, no mínimo, 20 UI de fator IX por mililitro.

O método de preparação deve ser desenvolvido de modo a manter a integridade funcional do fator IX, minimizar a ativação de qualquer fator de coagulação (para limitar o potencial trombogênico) e deve incluir uma ou várias etapas que demonstrem eliminar ou inativar os agentes infecciosos conhecidos e não conhecidos. Se forem acrescentadas substâncias para inativação viral na etapa de produção, um procedimento de purificação deve ser validado, de modo a demonstrar que as concentrações dessas substâncias foram reduzidas a um nível aceitável e que tais resíduos não comprometem a segurança da preparação. A atividade específica é de, no mínimo, 50 UI de fator IX por miligrama de proteínas totais, antes de eventual adição de um estabilizante proteico.

A fração que contém o fator IX é solubilizada em diluente apropriado. Pode ser adicionado heparina, antitrombina e outras substâncias auxiliares, como um estabilizante. Não devem ser adicionados conservantes antimicrobianos. A solução é filtrada em um filtro esterilizante e distribuída assepticamente nos recipientes finais e imediatamente congelada. Em seguida, é liofilizada e os recipientes são fechados a vácuo ou sob gás inerte.

A regularidade do método de produção é avaliada por procedimentos analíticos apropriados durante os estudos de desenvolvimento entre os quais figuram habitualmente os seguintes:

• determinação do fator IX;
• determinação dos fatores de coagulação ativados;
• determinação da atividade dos fatores de coagulação II, VII e X, que não é superior a 5% da atividade do fator IX.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a amostra como indicado no rótulo, imediatamente antes de realizar a identificação, os ensaios (com exceção dos ensaios de solubilidade e água) e o doseamento.

A. Proceder aos ensaios de precipitação com a amostra, usando uma gama apropriada de soros específicos de espécies animais. O ensaio é realizado com soros específicos que contenham proteínas plasmáticas das espécies animais que normalmente se usam no país para a preparação de produtos de origem biológica. A amostra contém proteínas de origem humana e não precipita com os soros específicos que contenham proteínas plasmáticas de outras espécies animais.

B. A determinação da atividade coagulante do fator IX contribui para identificar a preparação.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Pó ou sólido friável, branco ou amarelo claro.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,5.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

Solubilidade. Ao conteúdo de um recipiente da amostra, juntar o volume de diluente indicado no rótulo e agitar suavemente durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Há dissolução total, formando-se uma solução límpida ou ligeiramente opalescente e incolor.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um método apropriado, como *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, um volume da amostra reconstituída correspondente a, no mínimo, 30 UI do Fator IX e, no máximo, 50 UI do Fator IX.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Fator IX de coagulação sanguínea

Proceder conforme descrito em *Determinação do fator IX de coagulação sanguínea* **(5.5.1.4)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada não ultrapassa 80% a 125%.

Fatores de coagulação ativados

Proceder conforme descrito em *Determinação de fatores de coagulação ativados* **(5.5.1.8)**. Se necessário, diluir a amostra para obter uma solução contendo 20 UI do fator IX por mililitro. Para cada uma das diluições, o tempo de coagulação é, no mínimo, 150 segundos.

Heparina

Caso tenha sido adicionada heparina durante a produção, determinar sua quantidade de acordo com o ensaio *Determinação da heparina nos fatores de coagulação* **(5.5.1.1)**. A amostra contém, no máximo, a quantidade de heparina indicada no rótulo e, no máximo, 0,5 UI de heparina por unidade internacional de fator IX.

Proteínas totais

Se necessário, deve-se diluir a preparação reconstituída com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de forma a obter-se uma solução que contenha cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. Num tubo

de centrífuga de fundo redondo deve-se introduzir 2,0 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico isento de nitrogênio e água (1:30). Agitar e centrifugar durante cinco minutos. O líquido sobrenadante deve ser decantado permitindo-se que o tubo seja enxuto sobre um papel de filtro. Determinar o nitrogênio no resíduo pelo método de *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. Calcular o teor em proteínas, multiplicando o resultado por 6,25. Este método pode não ser aplicável a certos produtos, notadamente aos que não contêm estabilizante proteico, como a albumina, sendo utilizado outro método validado para o doseamento.

ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

No rótulo indica-se no mínimo:

- o número de unidades internacionais do fator IX em cada frasco; a quantidade de proteínas em cada frasco;
- o nome e a quantidade de qualquer substância adicionada, incluindo a heparina, quando aplicável;
- o nome e o volume do diluente necessário para reconstituir a preparação; as condições de conservação;
- o prazo de validade; que a transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente excluída quando se administram medicamentos derivados do sangue ou do plasma humanos (este último pode ser indicado alternativamente no texto de bula).

FATOR VII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO

Fator VII coagulationis humanus cryodesiccatus

fator VII de coagulação; 03808

O fator VII da coagulação sanguínea de origem humana liofilizado é uma fração proteica do plasma que contém o fator VII (um derivado glicoproteico de cadeia simples), podendo igualmente conter pequenas quantidades da sua forma ativada (o derivado de duas cadeias ou fator VIIa), assim como os fatores II, IX, e X, a Proteína C e a Proteína S. É preparado a partir de plasma humano de acordo com a monografia *Plasma humano para fracionamento*. A atividade da preparação, reconstituída de acordo com as indicações que figuram no rótulo, é de, no mínimo, 15 UI de fator VII por mililitro.

O método de preparação deve ser desenvolvido de modo a manter a integridade funcional do fator VII, minimizar a ativação de qualquer fator de coagulação (para limitar o potencial trombogênico) e deve incluir uma ou várias etapas que demonstrem eliminar ou inativar os agentes infecciosos conhecidos e não conhecidos. Se forem acrescentadas substâncias para inativação viral na etapa de produção, um procedimento de purificação deve ser validado, de modo a demonstrar que as concentrações dessas substâncias foram reduzidas a um nível aceitável e que tais resíduos não comprometem a segurança da preparação. A atividade específica é de, no mínimo, 2 UI de fator VII por miligrama de proteínas totais, antes da eventual adição de um estabilizante proteico.

A fração que contém o fator VII é dissolvida em um diluente apropriado. Pode ser adicionado heparina, antitrombina e outras substâncias auxiliares, como um estabilizante.

Não se adiciona qualquer conservante antimicrobiano. A solução é filtrada em um filtro esterilizante e depois distribuída assepticamente nos recipientes finais e imediatamente congelada. Em seguida, é liofilizada e os recipientes são fechados sob vácuo ou sob gás inerte.

É demonstrada a regularidade do método de produção, no que diz respeito às atividades dos fatores II, IX e X da preparação, expressas em unidades internacionais e em relação à atividade do fator VII.

É demonstrada a regularidade do método de produção, no que diz respeito à atividade do fator VIIa da preparação. A atividade do fator VIIa pode ser determinada, com um fator tissular recombinante solúvel, que não ativa o fator VII em fator VIIa, mas que tem função de cofator específico do fator VIIa: após incubação da mistura do fator tissular recombinante solúvel e fosfolipídios com uma diluição da amostra e do plasma deficiente em fator VII, junta-se cloreto de cálcio e determina-se o tempo, de coagulação; o tempo de coagulação é inversamente proporcional à atividade do fator VIIa da amostra.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a amostra como indicado no rótulo, imediatamente antes de realizar a identificação, os ensaios (com exceção dos ensaios de solubilidade e água) e o doseamento.

A. Realizar com a amostra ensaios de precipitação com uma série adequada de soros específicos para as várias espécies. Recomenda-se que o ensaio seja realizado com soros específicos de proteínas plasmáticas de cada uma das espécies domésticas normalmente utilizadas na preparação de produtos biológicos. Demonstra-se que a preparação contém proteínas de origem humana e apresenta resultados negativos com soros específicos para as proteínas plasmáticas de outras espécies.

B. A determinação da atividade coagulante do fator VII contribui para identificar a preparação.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Pó ou sólido friável, podendo ser branco, amarelo claro, verde ou azul.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,5.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

Solubilidade. Ao conteúdo de um frasco da amostra, juntar o volume do diluente indicado no rótulo, à temperatura recomendada, e agitar suavemente por no máximo 10 minutos. A amostra dissolve-se completamente formando uma preparação límpida ou ligeiramente opalescente, que pode ser corada.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um método apropriado, como *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, a *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. No máximo, 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, um volume da amostra reconstituída correspondente a, no mínimo, 30 UI do fator VII.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Fator VII de coagulação sanguínea

Proceder conforme descrito em *Determinação do fator VII de coagulação sanguínea* **(5.5.1.5)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada não ultrapassa 80% a 125%.

Fatores de coagulação ativados

Proceder conforme descrito em *Determinação de fatores de coagulação ativados* **(5.5.1.8)**. Para cada uma das diluições, o tempo de coagulação é, no mínimo, 150 segundos.

Heparina

Caso tenha sido adicionada heparina durante a produção, determinar a sua quantidade de acordo com o ensaio *Determinação da heparina nos fatores de coagulação* **(5.5.1.1)**. A amostra contém, no máximo, a quantidade de heparina indicada no rótulo e, no máximo, 0,5 UI de heparina por unidade internacional de Fator VII.

Proteínas totais

Se necessário, deve-se diluir a preparação reconstituída com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de forma a obter-se uma solução que contenha cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. Num tubo de centrifuga de fundo redondo deve-se introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico isento de nitrogênio e água (1:30). Agitar e centrifugar durante cinco minutos. O líquido sobrenadante deve ser decantado, permitindo-se que o tubo seja enxuto sobre um papel de filtro. Determinar o nitrogênio no resíduo pelo método de *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. Calcular o teor em proteínas, multiplicando o resultado por 6,25.

Trombina

Se a amostra contiver heparina, determinar a quantidade presente, conforme indicado na *Determinação da heparina nos fatores de coagulação* **(5.5.1.1)**, e neutralizá-la, juntando sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizam 1 UI de heparina). Utilizar dois tubos de ensaio e em cada um misturar volumes iguais da amostra reconstituída e de solução de fibrinogênio a 0,3% (p/v). Manter um dos tubos a 37 °C durante seis horas e o outro à temperatura ambiente durante 24 horas. Num terceiro tubo, misturar um volume da solução de fibrinogênio com um volume de solução de trombina humana contendo 1 UI por mililitro e colocar o tubo em banho-maria a 37 °C. Não se produz coagulação nos tubos da amostra. Produz-se coagulação em 30 segundos no tubo que contém trombina.

ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

No rótulo indica-se no mínimo:

- o número de unidades internacionais do fator VII em cada frasco;
- a quantidade de proteínas em cada frasco;
- o nome e a quantidade de qualquer substância adicionada, incluindo a heparina, quando aplicável;
- o nome e o volume do diluente necessário para reconstituir a preparação; as condições de conservação;
- o prazo de validade; que a transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente excluída quando se administram medicamentos derivados do sangue ou do plasma humanos (este último pode ser indicado alternativamente no texto de bula).

FATOR VIII DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA LIOFILIZADO

Factor VIII coagulationis sanguinis humanus cryodesiccatus

fator VIII de coagulação; 03809

O fator VIII da coagulação sanguínea de origem humana liofilizado é uma fração proteica do plasma que contém uma glicoproteína chamada fator VIII de coagulação e, em função do método de purificação, quantidades variáveis do fator de Von Willebrand. É preparado a partir de uma mistura de plasma obtida de doadores sadios. A atividade da preparação, reconstituída de acordo com as indicações que figuram no rótulo, é, no mínimo, 20 UI de fator VIII:C por mililitro.

O método de preparação inclui duas ou mais etapas de inativação viral que demonstrem a eliminação ou inativação dos agentes infecciosos virais conhecidos. Se forem acrescentadas substâncias para inativação viral na etapa de produção, um procedimento de purificação deve ser validado, de modo a demonstrar que as concentrações dessas substâncias foram reduzidas a um nível aceitável e que tais resíduos não comprometem a segurança da preparação. A atividade específica é, no mínimo, 1 UI de fator VIII:C por miligrama de proteínas totais, antes de eventual adição de um estabilizante proteico.

O fator VIII liofilizado é dissolvido em diluente especificado pelo fabricante. Podem ser adicionadas substâncias auxiliares, como por exemplo, um estabilizante. Não são adicionados conservantes antimicrobianos. A solução é filtrada de modo a proporcionar retenção de bactérias, sendo então distribuída assepticamente nos recipientes finais e imediatamente congelada. Em seguida, é liofilizada e os recipientes são fechados sob vácuo ou sob gás inerte.

Validação aplicada aos produtos com indicação de possuírem uma atividade do tipo fator de Von Willebrand. Nos produtos destinados ao tratamento da doença de Von Willebrand, tem sido demonstrado que o processo de fabricação dá origem a um produto com uma composição constante no que diz respeito ao fator de Von Willebrand. Esta composição pode ser demonstrada de várias maneiras. Por exemplo, o número e os vários multímeros do fator de Von Willebrand podem ser determinados por eletroforese em gel de agarose (aproximadamente 1% de agarose) em presença de dodecilsulfato de sódio (DSS), com ou sem análise de *Western Blot*, utilizando uma mistura de plasma humano normal como referência. A visualização do perfil multimérico pode ser realizada por uma técnica imunoenzimática e a avaliação quantitativa por densitometria ou outros métodos apropriados.

Produtos que apresentam flocos ou partículas depois da reconstituição para uso. Se ínfimas partículas ou flocos permanecem após a preparação reconstituída, durante o estudo de validação deve ser demonstrado que a potência não é significativamente influenciada após a filtração da preparação.

IDENTIFICAÇÃO

Atende ao teste de *Fator VIII da coagulação sanguínea humana liofilizado* descrito em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Pó ou sólido friável branco ou ligeiramente amarelo e higroscópico.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,5.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

Solubilidade. Ao conteúdo de um frasco contendo a amostra, adicionar um volume do diluente indicado no rótulo à temperatura recomendada e agitar suavemente por no máximo 10 minutos. A amostra dissolve-se completamente formando uma solução límpida ou ligeiramente opalescente e incolor ou ligeiramente amarelada. Quando o frasco do produto apresentar ínfimas partículas ou flocos após a reconstituição, deve-se reconstituir e filtrar a preparação, como descrito no rótulo. A solução filtrada é clara ou ligeiramente opalescente.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um método apropriado, como *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, um volume da amostra reconstituída correspondente a, no mínimo, 30 UI do fator VIII:C.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Antígenos de superfície da hepatite B

Proceder conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. Examinar a amostra reconstituída. Não se detecta o antígeno de superfície da hepatite B.

Fator de Von Willebrand humano

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação do fator de Von Willebrand humano* **(5.5.1.2)**.

B. Determinar a atividade do cofator da ristocetina. Preparar diluições apropriadas da amostra reconstituída e da preparação de referência, utilizando como diluente solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) e albumina humana a 5% (p/v). Adicionar, a cada preparação, quantidade apropriada de uma mistura contendo plaquetas humanas estabilizadas e ristocetina A. Misturar numa lâmina de vidro com movimentos circulares suaves durante um minuto. Deixar em repouso durante um minuto e efetuar a leitura do resultado em fundo escuro e iluminação lateral. A última diluição que apresentar uma aglutinação nitidamente visível indicará o título da amostra. Como testemunho negativo deve ser utilizado o diluente. A atividade determinada é de, no mínimo, 60% e, no máximo, 140% da atividade aprovada para o produto.

Fator VIII da coagulação sanguínea humana liofilizado

Proceder conforme descrito em *Determinação do fator VIII da coagulação sanguínea humana liofilizado* **(5.5.1.7)**. A atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 120% da atividade indicada.

Hemaglutininas anti-A e anti-B

Proceder conforme descrito em *Determinação de títulos de hemaglutininas anti-A e anti-B* **(5.5.1.9)**. Diluir a amostra reconstituída com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração de 3 UI/mL. As diluições a 1/64 não apresentam sinais de aglutinação. Cumpre o teste.

Proteínas totais

Proceder conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. Se necessário, diluir a preparação reconstituída com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de forma a obter uma solução contendo cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. A um tubo de centrífuga de fundo redondo, adicionar 2 mL dessa solução, 2 mL de solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de mistura de ácido sulfúrico isento de nitrogênio e água (1:30). Agitar e centrifugar durante cinco minutos. O líquido sobrenadante deve ser decantado permitindo-se que o tubo seja enxuto sobre um papel de filtro. Calcular o teor em proteínas multiplicando o resultado por 6,25. Este método pode não ser aplicável a certos produtos, notadamente aos que não contêm estabilizante proteico como a albumina, sendo utilizado outro método validado para o doseamento.

ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo indica-se:

- o número de unidades internacionais do fator VIII:C e, nos casos apropriados, do fator de Von Willebrand;
- a quantidade de proteínas em cada recipiente;
- o nome e a quantidade de qualquer substância adicionada;
- o nome e o volume do líquido necessário para reconstituir a preparação; as condições de conservação;
- o prazo de validade; que a transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente excluída quando se administram medicamentos derivados do sangue ou do plasma humanos (este último pode ser indicado alternativamente no texto da bula).

FIBRINOGÊNIO HUMANO LIOFILIZADO

Fibrinogenum humanum cryodesiccatus

fibrinogênio; 04045

O fibrinogênio humano liofilizado contém a fração solúvel do plasma humano que, por adição da trombina, é transformado em fibrina. O fibrinogênio deve ser obtido a partir do *Plasma humano para fracionamento*. A preparação pode conter aditivos, como sais, tampões ou estabilizantes. A preparação reconstituída com o volume de diluente indicado no rótulo deve conter, no mínimo, 10 g/L de fibrinogênio.

O método de preparação compreende uma ou várias etapas que demonstraram eliminar agentes infecciosos conhecidos; tem sido demonstrado que os resíduos, no produto final das substâncias eventualmente utilizadas nos processos destinados à inativação viral ou nos processos de purificação devidamente validados posteriores não têm qualquer efeito indesejável nos pacientes.

Não se deve adicionar ao plasma nenhum antibiótico e a preparação não deve conter nenhum conservante antimicrobiano.

O método de preparação deve ser tal que a atividade específica (teor em fibrinogênio em relação ao teor em proteínas totais) é, no mínimo, 80%. Se for adicionado à preparação um estabilizante proteico (por exemplo, a albumina humana) essa deve satisfazer às exigências para a atividade específica do fibrinogênio, antes da adição do estabilizante.

Durante o fracionamento do plasma humano, poderá ser obtido ao mesmo tempo o fibrinogênio e a albumina. A determinação da atividade específica da albumina deve ser, então, determinada por um método imunoquímico apropriado e a quantidade determinada deve ser subtraída da quantidade de proteínas totais para o cálculo de atividade específica.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a amostra, segundo as indicações que constam no rótulo, realizar ensaios de precipitação com vários soros específicos de diferentes espécies. É recomendável que o ensaio seja realizado com soros específicos das proteínas plasmáticas de cada espécie de animal doméstico**,** correntemente, utilizado para a preparação de produtos de origem biológica. A amostra deve conter proteínas de origem humana e dá resultados negativos com os soros específicos das proteínas plasmáticas de outras espécies. O doseamento da amostra contribui para identificação da preparação.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Pó ou sólido friável, branco, ou amarelo pálido.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,5.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

Solubilidade. Adicionar o volume de diluente, indicado no rótulo, ao conteúdo do frasco. À temperatura de 20 °C a 25 °C, o fibrinogênio dissolve-se em 30 minutos, originando uma preparação quase incolor e ligeiramente turva.

Estabilidade da preparação. Após reconstituição da preparação à temperatura de 20 °C a 25 °C, deixar em repouso. Não deve aparecer qualquer sinal de gelificação no decurso dos 60 minutos que seguem à reconstituição.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um dos métodos: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, um volume correspondente a, no mínimo, 30 mg de fibrinogênio, calculado em relação à quantidade indicada no rótulo.

DOSEAMENTO

Antígenos de superfície da hepatite B

Examinar a amostra reconstituída conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. Não deve ser detectado o antígeno de superfície da hepatite B.

Fibrinogênio

Misturar 0,2 mL da amostra reconstituída com 2 mL de tampão apropriado (pH 6,6 a 6,8) contendo uma quantidade suficiente de trombina (cerca de 3 UI/mL) e cálcio (0,05 mol/L). Manter a mistura à temperatura de 37 °C durante 20 minutos, separar o precipitado por centrifugação (5000 × *g* por 20 minutos) e lavar, cuidadosamente**,** com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v). Determinar o teor de nitrogênio pelo método *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)** e calcular a quantidade de fibrinogênio (proteínas coaguláveis) multiplicando o resultado por 6. O teor é, no mínimo, 70,0% e, no máximo, 130,0% da quantidade indicada no rótulo. Também, estão disponíveis no mercado, conjuntos destinados às determinações quantitativas, manuais ou automatizadas, de fibrinogênio em plasma citratado por método de formação do coágulo. Esses conjuntos baseiam-se numa quantidade ótima de trombina bovina que é adicionada a um plasma diluído a 1:10. O tempo de coagulação medido deve ser inversamente relacionado à concentração de fibrinogênio na amostra testada. Esses conjuntos devem estar registrados no órgão competente e devidamente validados em conformidade com os padrões do *National Committee for Clinical Standards: Collection Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 1991. NCCLS *Document* H21 - A2 podem ser utilizados em unidades hemoterápicas que produzam crioprecipitados a partir do plasma fresco congelado e tenham necessidade de quantificar o fibrinogênio plasmático.

ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

O rótulo deve indicar a quantidade de fibrinogênio contida no frasco, o nome e o volume do diluente a ser utilizado para reconstituir a preparação, nos casos apropriados, o nome e a quantidade de estabilizante proteico utilizado na preparação.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-D
Immunoglobulinum humanum anti-D

imunoglobulina humana anti-D; 11440

A imunoglobulina humana anti-D é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma proveniente de doadores D-negativos, contendo títulos elevados de imunoglobulinas contra o antígeno D específico e pequenas quantidades de anticorpos contra outros grupos sanguíneos. Pode ser adicionada a ela imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana anti-D satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

Estabilidade. Para a preparação líquida, realizar ensaio de degradação acelerada, realizado por aquecimento a 37 °C durante quatro semanas no produto final; a perda de atividade anti-D é, no máximo, 20% do valor inicial.

Para limitar a carga viral do vírus B19 em *pools* de plasma utilizados por fabricantes da imunoglobulina anti-D, o *pool* de plasma é testado quanto à presença do vírus B19, mediante o emprego de técnicas de amplificação de ácidos nucleicos devidamente validadas. No máximo 10 UI/µL.

Um controle positivo com 10 UI do DNA do vírus B19 por microlitro e um controle interno preparado por meio da adição de um marcador apropriado a uma amostra do *pool* de plasma são usados no teste. O teste é inválido se o controle positivo for não reagente ou se o resultado obtido com o controle interno indicar a presença de inibidores.

Se for adicionada à preparação imunoglobulina humana e/ou solução de albumina humana, o *pool* ou *pools* de plasma de origem devem cumprir os requisitos apresentados anteriormente para o DNA de vírus B19.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Determinação da imunoglobulina humana anti-D* **(5.5.1.15)**. A potência estimada é, no mínimo, 90% da potência declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 120% da potência estimada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*. No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por recipiente.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE A
Immunoglobulinum humanum hepatitidis A

imunoglobulina humana anti-hepatite A; 11441

A imunoglobulina humana anti-hepatite A é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma proveniente de doadores selecionados contendo anticorpos contra o vírus da hepatite A. Pode ser adicionada a ela a imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana anti-hepatite A satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana contra a hepatite A é avaliada por comparação com a atividade de uma preparação de referência aferida em unidades internacionais, por meio de um ensaio com sensibilidade e especificidade apropriadas (Proceder conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. A Unidade Internacional corresponde à atividade de uma determinada quantidade da preparação de referência internacional da imunoglobulina humana anti-hepatite A. A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A atividade declarada é, no mínimo, 600 UI/mL. A atividade estimada não é inferior à atividade declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal.*

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal*. No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por mililitro.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE B
Immunoglobulinum humanum hepatitidis B

imunoglobulina humana anti-hepatite B; 10809

A imunoglobulina humana anti-hepatite B é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma proveniente de doadores selecionados contendo anticorpos contra o vírus da hepatite B. Pode ser adicionada a ela imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana anti-hepatite B satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana anti-hepatite B é avaliada por comparação com a atividade de uma preparação de referência aferida em Unidades Internacionais, por meio de um ensaio com sensibilidade e especificidade apropriadas (Proceder conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. A Unidade Internacional corresponde à atividade de uma determinada quantidade da preparação de referência internacional da imunoglobulina humana anti-hepatite B. A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A atividade declarada é, no mínimo, 100 UI/mL. A atividade estimada não é inferior à atividade declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITE B PARA USO INTRAVENOSO

Immunoglobulinum humanum hepatitidis B ad usum intravenosum

A imunoglobulina humana anti-hepatite B para uso intravenoso é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. É obtida a partir do plasma proveniente de doadores portadores de anticorpos específicos contra o antígeno de superfície da hepatite B. Pode ser adicionada de imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa. A imunoglobulina humana anti-hepatite B para uso intravenoso satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores, ao teor mínimo em proteínas totais e ao limite de osmolalidade.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana anti-hepatite B para administração por via intravenosa é avaliada por comparação do título em anticorpos da amostra com a atividade de uma preparação de referência aferida em Unidades Internacionais, por meio de um imunodoseamento com sensibilidade e especificidade apropriadas (Proceder conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. A Unidade Internacional corresponde à atividade de uma determinada quantidade da preparação internacional de referência da imunoglobulina humana anti-hepatite B. A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A atividade declarada é, no mínimo, 50 UI/mL. A atividade estimada não é inferior à atividade declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa.* No rótulo indica-se o número mínimo de Unidades Internacionais por recipiente.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIRRÁBICA
Immunoglobulinum humanum rabicum

imunoglobulina humana antirrábica; 11442

A imunoglobulina humana antirrábica é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma proveniente de doadores portadores de anticorpos específicos contra a raiva. Pode ser adicionada a ela a imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana antirrábica satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana antirrábica é avaliada por comparação entre a dose necessária para neutralizar o poder infeccioso do vírus da raiva e a dose de uma preparação de referência aferida em Unidades Internacionais necessária para assegurar o mesmo grau de neutralização (*Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. Realizar a aferição em culturas celulares sensíveis e revelar a presença do vírus não neutralizado por imunofluorescência. A Unidade Internacional corresponde à atividade neutralizante específica para o vírus da raiva de uma determinada quantidade de uma preparação de referência internacional de imunoglobulina humana antirrábica.

A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

Realizar a aferição em células sensíveis apropriadas. Utilizar a linha celular BHK 21, multiplicada no meio de cultura descrito a seguir, e submeter entre 18 a 30 passagens a partir do lote semente do ATCC. Recolher as células após uma incubação de dois a quatro dias. Tratar as células com tripsina. Preparar uma suspensão de 500 000 células por mililitro (suspensão de células). Para aumentar a sensibilidade das células, juntar, se necessário, 10 minutos antes da utilização desta suspensão, 10 µg de dietilaminoetildextrano por mililitro.

Utilizar uma cepa de vírus fixa multiplicada em células sensíveis, por exemplo, a cepa CVS, adaptada à cultura na linha celular BHK 21 (suspensão-mãe do vírus). Titular a suspensão-mãe do vírus do seguinte modo:

Preparar uma série de diluições da suspensão do vírus. Em placas com câmaras para culturas celulares (oito câmaras por placa), distribuir 0,1 mL de cada diluição. Adicionar 0,1 mL do meio de cultura e 0,2 mL da suspensão de células. Incubar a 37 °C em atmosfera de dióxido de carbono, durante 24 horas. Fixar, corar por imunofluorescência e realizar os cálculos segundo as indicações descritas a seguir. Determinar o título da suspensão-mãe do vírus e preparar uma diluição de trabalho do vírus correspondente a 100 $DICC_{50}$ por 0,1 mL.

Em cada ensaio verificar a quantidade do vírus realizando uma titulação controle: a partir da diluição correspondente a 100 $DICC_{50}$ por 0,1 mL, realizar três diluições sucessivas de razão 10. Distribuir respectivamente 0,1 mL de cada diluição em quatro câmaras contendo 0,1 mL do meio de cultura e acrescentar 0,2 mL da suspensão de células. O ensaio só é válido se o título se situar entre 30 e 300 $DICC_{50}$.

Diluir a preparação de referência com meio de cultura não suplementar até à concentração de 2 UI/mL (diluição-mãe de referência e conservar a uma temperatura inferior a -80 °C). Preparar duas pré-diluições apropriadas (1/8 e 1/10) da diluição-mãe de referência de modo que a diluição da preparação de referência que reduz de 50% o número de campos fluorescentes na placa de cultura celular se encontre entre as quatro diluições. Adicionar 0,1 mL de meio a cada câmara, exceto na 1ª de cada uma de duas filas às quais se junta, respectivamente, 0,2 mL das duas pré-diluições da diluição-mãe de referência e a seguir transferir 0,1 mL sucessivamente para as outras câmaras.

Diluir a amostra a 1/100 com meio de cultura não suplementado (diluição-mãe de imunoglobulina) para reduzir ao mínimo os erros devidos à viscosidade da preparação não diluída. Preparar três pré-diluições apropriadas da diluição-mãe de imunoglobulina de modo que a diluição da amostra que reduz de 50% o número de campos fluorescentes na placa de cultura celular se encontre entre as quatro diluições.

Adicionar 0,1 mL de meio a cada câmara, exceto na 1ª de cada uma de três filas às quais se adiciona, respectivamente, 0,2 mL das três pré-diluições da diluição-mãe de imunoglobulina. Preparar uma série de diluições de razão 2 transferindo 0,1 mL sucessivamente para as outras câmaras.

A todas as câmaras contendo as diluições da preparação de referência e as diluições da amostra, adicionar 0,1 mL da suspensão de vírus correspondente a 100 $DICC_{50}$ por 0,1 mL (diluição de trabalho), agitar manualmente e deixar em repouso a 37 °C em atmosfera de dióxido de carbono durante 90 minutos, acrescentar 0,2 mL da suspensão de células, agitar manualmente e deixar em repouso a 37 °C em atmosfera de dióxido de carbono, durante 24 horas. Após 24 horas eliminar o meio e retirar as paredes de plástico.

Lavar as câmaras monocelulares com tampão fosfatosalina de pH 7,4 e depois com uma mistura de 20 volumes de água e 80 volumes de acetona e fixar durante três minutos com uma mistura de 20 volumes de água e 80 volumes de acetona a -20 °C. Espalhar nas lâminas o conjugado fluorescente de soro antirrábico pronto a ser utilizado.

Deixar em repouso durante 30 minutos a 37 °C numa atmosfera com uma umidade muito elevada. Lavar com tampão fosfato-salina de pH 7,4 e secar. Examinar 20 campos de cada câmara com uma ampliação de 250 vezes com um microscópio equipado para leitura com fluorescência. Registrar o número de campos contendo, no mínimo, uma célula fluorescente. Verificar a dose do vírus de prova utilizado na placa para a titulação do vírus e determinar a diluição da preparação de referência e da amostra que reduz de 50% o número de campos fluorescentes realizando os cálculos para o conjunto das duas ou três diluições, por meio de uma análise de probabilidade iterativa. O ensaio só é válido quando a análise estatística demonstrar uma inclinação significativa da curva dose/efeito e não revelar desvio da linearidade ou do paralelismo.

A atividade declarada é de, no mínimo, 150 UI/mL. A atividade estimada não é inferior à atividade declarada nem superior a duas vezes a atividade declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

MEIOS DE CULTURA PARA O CRESCIMENTO DAS CÉLULAS BHK 21

Os meios comercializados com uma composição ligeiramente diferente daquela que se indica podem igualmente ser utilizados.

cloreto de sódio	6,4 g
cloreto de potássio	0,40 g

cloreto de cálcio anidro	0,20 g
sulfato de magnésio heptaidratado	0,20 g
fosfato de sódio monoidratado	0,124
glicose monoidratada	4,5 g
nitrato férrico nonaidratado	0,10 mg
cloridrato de L-arginina	42,0 mg
L-cistina	24,0 mg
L-histidina	16,0 mg
L-isoleucina	52,0 mg
L-leucina	52,0 mg
cloridrato de L-lisina	74,0 mg
L-fenilalanina	33,0 mg
L-treonina	48,0 mg
L-triptofano	8,0 mg
L-tirosina	36,0 mg
L-valina	47,0 mg
L-metionina	15,0 mg
L-glutamina	0,292 g
I-inositol	3,60 mg
cloreto de colina	2,0 mg
ácido fólico	2,0 mg
nicotinamida	2,0 mg
pantotenato de cálcio	2,0 mg
cloridrato de piridoxal	2,0 mg
cloridrato de tiamina	2,0 mg
riboflavina	2,0 mg
vermelho de fenol	15,0 mg
bicarbonato de sódio	2,75 g
água q.s.p.	1000 mL

Adicionar ao meio o seguinte suplemento:

soro fetal de vitela (aquecido durante 30 minutos a 56° C)	10%
caldo triptose fosfato	10%
benzilpenicilina sódica	60 mg/L
estreptomicina	0,1 g/L

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*.

ROTULAGEM

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*. No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por recipiente.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIRRUBÉOLA
Immunoglobulinum humanum rubellae

imunoglobulina humana antirrubéola; 11443

A imunoglobulina humana antirrubéola é uma preparação estéril; líquida ou liofilizada contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma contendo anticorpos específicos contra o vírus da rubéola. Pode ser adicionada de imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana antirrubéola satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana antirrubéola é avaliada por comparação com a atividade de uma preparação de referência aferida em Unidades Internacionais, por meio de um ensaio apropriado de inibição de hemaglutinação. A Unidade Internacional corresponde à atividade de uma determinada quantidade da preparação de referência internacional de soro humano contra a rubéola. A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A atividade estimada é, no mínimo, 4500 UI/mL. Os limites de confiança (P = 0,95) da atividade estimada são, no mínimo, 50% e, no máximo, 200% da atividade declarada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal.* No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por mililitro.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTISSARAMPO
Immunoglobulinum humanum morbillicum

imunoglobulina humana antissarampo; 11444

A imunoglobulina humana antissarampo é uma preparação estéril; líquida ou liofilizada contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma contendo anticorpos específicos contra o vírus do sarampo. Pode ser adicionada de imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana antissarampo satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

DOSEAMENTO

A atividade da preparação líquida ou da preparação liofilizada reconstituída segundo as indicações contidas no rótulo é de, no mínimo, 50 UI/mL de anticorpos neutralizantes do vírus do sarampo.

A atividade é avaliada por comparação entre o título em anticorpos da amostra e de uma preparação de referência aferida em unidades internacionais, utilizando uma dose de prova de vírus do sarampo em cultura celular apropriada.

A Unidade Internacional corresponde à atividade neutralizante específica para o vírus do sarampo de uma determinada quantidade da preparação internacional de referência do soro humano do sarampo.

A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

Preparar diluições seriadas da amostra e da preparação de referência. Misturar volumes iguais de cada diluição e de uma suspensão de vírus do sarampo contendo cerca de 100 $DICC_{50}$ em 0,1 mL. Incubar essas misturas ao abrigo da luz a 37 °C durante duas horas. Utilizar, no mínimo, seis culturas celulares para cada mistura e inocular 0,2 mL da mistura por cultura. Incubar, pelo menos, durante 10 dias. Examinar as culturas quanto ao desenvolvimento do vírus.

Determinar a atividade comparando a diluição que contém a menor quantidade da amostra que tenha neutralizado o vírus com a da preparação de referência que manifeste idêntica atividade. Calcular a atividade da amostra em unidades internacionais de anticorpos neutralizantes do vírus do sarampo por mililitro.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*.

ROTULAGEM

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*. No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por recipiente.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTITÉTANO
Immunoglobulinum humanum tetanicum

imunoglobulina humana antitétano; 11445

A imunoglobulina humana antitétano é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. É obtida a partir do plasma contendo anticorpos específicos contra a toxina do *Clostridium tetani*. Pode ser adicionada de imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana antitétano satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores e ao teor mínimo em proteínas totais.

Durante a produção é conveniente ser estabelecida uma relação satisfatória entre a atividade determinada por imunodoseamento pelo método *Determinação da atividade humana contra o tétano* e a atividade determinada pelo método *Atividade antitóxica em camundongos* em *Doseamento.*

DOSEAMENTO

Atividade antitóxica em camundongos

Avaliar a atividade pela determinação da dose que permite assegurar a proteção de camundongos contra os efeitos paralisantes de uma determinada dose de toxina tetânica. Essa dose é comparada com uma preparação de referência de uma imunoglobulina humana tetânica aferida em unidades internacionais, necessária para assegurar a mesma proteção. A Unidade Internacional de antitoxina corresponde à atividade neutralizante específica relativamente à toxina tetânica contida numa determinada quantidade do padrão internacional constituído pela imunoglobulina humana liofilizada. A correspondência entre a Unidade Internacional e o Padrão Internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde. A imunoglobulina humana contra o tétano é aferida em unidades internacionais por comparação com o padrão internacional.

Escolha dos animais. Utilizar camundongos com peso compreendido entre 16 e 20 g.

Preparação da toxina de teste. Preparar a toxina de teste por um método apropriado a partir do filtrado estéril de uma cultura de *C. tetani* em meio líquido. Os dois métodos a seguir referidos são dados a título de exemplo, mas qualquer outro método apropriado pode ser utilizado.

(1) Ao filtrado de uma cultura de cerca de nove dias, adicionar 1 a 2 volumes de glicerina e conservar a mistura no estado líquido a uma temperatura ligeiramente inferior a 0 °C.

(2) Precipitar a toxina por adição à cultura de sulfato de amônio, secar o precipitado sob vácuo em presença de pentóxido de fósforo, pulverizá-lo e conservá-lo seco em ampolas fechadas sob vácuo em presença de pentóxido de fósforo.

Determinação da dose da toxina de teste (dose Lp/10).

Preparar uma solução da preparação de referência em líquido apropriado de modo que contenha 0,5 UI de antitoxina por mililitro. Se a toxina for conservada no estado seco, reconstituir usando um líquido apropriado. Preparar uma série de misturas da solução da preparação de referência e da amostra de modo que cada uma contenha 2 mL da solução da preparação de referência e uma quantidade variável da amostra. Completar cada mistura com o mesmo volume final de 5 mL

utilizando um líquido apropriado. Deixar em repouso e ao abrigo da luz, durante 60 minutos. Utilizar um grupo de seis camundongos para cada mistura. Injetar a cada um deles, por via subcutânea, 0,5 mL da mistura atribuída ao seu grupo. Manter os camundongos em observação durante 96 horas. Os que forem atingidos por paralisia podem ser sacrificados. A dose de teste da toxina corresponde à quantidade presente em 0,5 mL da mistura contendo a menor quantidade de toxina que provoca, durante o período de observação, a paralisia nos seis camundongos aos quais foi administrada, apesar da neutralização parcial devido a preparação de referência.

Determinação da atividade da imunoglobulina

Preparar uma solução da preparação de referência em líquido apropriado de modo que contenha 0,5 UI de antitoxina por mililitro. Preparar uma solução da toxina de teste em líquido apropriado de modo que contenha cinco doses/mL. Preparar uma série de misturas da solução da toxina de prova e da amostra de modo que contenham cada uma 2 Ml da solução da toxina de prova e uma quantidade variável da amostra. Completar cada mistura com o mesmo volume final de 5 mL com líquido apropriado. Preparar uma segunda série de misturas da solução da toxina de teste e da solução da preparação de referência de modo que contenha cada uma 2 mL da solução da toxina de teste e uma quantidade variável da preparação de referência. Nessa segunda série, a diluição média da preparação de referência corresponde à mistura que contém 1 UI de antitoxina (2 mL da solução da preparação de referência). Completar cada mistura com o mesmo volume final de 5 mL, utilizando um líquido apropriado. Deixar em repouso as misturas das duas séries ao abrigo da luz, durante 60 minutos. Utilizar um grupo de seis camundongos para cada mistura. Injetar a cada um deles por via subcutânea, 0,5 mL da mistura atribuída ao seu grupo. Manter os camundongos em observação durante 96 horas. Os que forem atingidos por paralisia podem ser sacrificados. A mistura contendo a quantidade máxima de imunoglobulina que não protege nenhum camundongo da paralisia corresponde a 1 UI. Essa quantidade serve para calcular a atividade da imunoglobulina em unidades internacionais por mililitro.

O ensaio só é válido se todos os camundongos inoculados com a mistura contendo, até, 2 mL da solução da preparação de referência forem atingidos por paralisia e se todos os camundongos inoculados com as misturas contendo maiores volumes dessa solução não apresentarem sintomas de paralisia.

Determinação da atividade da imunoglobulina humana contra o tétano

A atividade da imunoglobulina humana contra o tétano é avaliada por comparação do título de anticorpos da amostra e o de uma preparação de referência, aferida em unidades internacionais, com o auxílio de um ensaio de imunodoseamento com sensibilidade e especificidade apropriadas (*Métodos imunoquímicos*). A imunoglobulina humana contra o tétano é aferida em unidades internacionais por comparação com o padrão internacional. A atividade indicada não é inferior a 100 UI de antitoxina tetânica por mililitro. A atividade determinada não é inferior à atividade indicada. Os limites de confiança (P = 0,95) da atividade determinada não são inferiores a 80%, nem superiores a 125%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal*. O rótulo deve indicar o número de unidades internacionais contido no frasco.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIVARICELA
Immunoglobulinum humanum varicellae

imunoglobulina humana antivaricela; 11446

A imunoglobulina humana antivaricela é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. A preparação é destinada a ser administrada por via intramuscular. É obtida a partir do plasma contendo anticorpos específicos contra o *Herpesvirus varicellae*. Pode ser adicionada de imunoglobulina humana normal. A imunoglobulina humana antivaricela satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores, ao teor mínimo em proteínas totais e, nos casos autorizados, ao ensaio dos anticorpos contra o antígeno de superfície da hepatite B.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana antivaricela é avaliada por comparação com a atividade de uma preparação de referência aferida em Unidades Internacionais, por meio de um ensaio com sensibilidade e especificidade apropriadas (Proceder conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. A Unidade Internacional corresponde à atividade de uma determinada quantidade da preparação de referência internacional da imunoglobulina humana contra a varicela. A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A atividade declarada é, no mínimo, 100 UI/mL. A atividade estimada não é inferior a atividade declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal.*

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal.* No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por mililitro.

IMUNOGLOBULINA HUMANA ANTIVARICELA PARA USO INTRAVENOSO

Immunoglobulinum humanum varicellae ad usum intravenosum

A imunoglobulina humana antivaricela para uso intravenoso é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G. É obtida a partir do plasma contendo anticorpos específicos contra o herpes vírus humano 3 (vírus da varicela-zoster 1). Pode ser adicionada de imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa. A imunoglobulina humana antivaricela para uso intravenoso satisfaz às exigências estabelecidas na monografia *Imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa*, exceto no que se refere ao número mínimo de doadores, ao teor mínimo em proteínas totais e ao limite de osmolalidade.

DOSEAMENTO

A atividade da imunoglobulina humana antivaricela para uso intravenoso é avaliada por comparação do título de anticorpos da amostra com a atividade de uma preparação de referência aferida em Unidades Internacionais, por meio de um imunodoseamento com sensibilidade e especificidade apropriadas (Proceder conforme descrito em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. A Unidade Internacional corresponde à atividade de uma determinada quantidade da preparação de referência internacional da imunoglobulina humana antivaricela. A correspondência entre a Unidade Internacional e a preparação de referência internacional é indicada pela Organização Mundial de Saúde.

A atividade declarada é, no mínimo, 25 UI/mL. A atividade estimada não é inferior à atividade declarada. Os limites de confiança (P = 0,95) são, no mínimo, 80% e, no máximo, 125% da atividade estimada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ver a monografia *Imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Ver a monografia de *Imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa.* No rótulo indica-se o número de Unidades Internacionais por mililitro.

IMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL
Immunoglobulinum humanum normale

imunoglobulina humana; 04865

Imunoglobulina humana normal é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo principalmente IgG. Outras proteínas também podem estar presentes. A imunoglobulina humana normal contendo anticorpos IgG pode ser administrada via intramuscular ou via subcutânea. A imunoglobulina humana normal é obtida do plasma humano, o qual cumpre os requisitos da monografia *Plasma humano para fracionamento*. Não deve ser adicionado antibiótico na preparação.

O método de preparação deve incluir uma ou mais etapas que demonstrem remover ou inativar agentes infecciosos conhecidos**.** Se substâncias são usadas para inativação viral, deverá demonstrar que não há nenhum resíduo na preparação final que apresente efeitos adversos nos pacientes tratados com a imunoglobulina. É necessário demonstrar, por meio de testes adequados em animais e avaliação durante os ensaios clínicos, que o produto é bem tolerado quando administrado por via intramuscular ou subcutânea. A imunoglobulina humana normal é preparada com *pool* de plasma de no mínimo 1000 doadores, por um método conhecido, que proporcione um produto final estéril e com concentração de proteínas de 160 g/L, contendo anticorpos de, no mínimo, dois agentes (dos quais um viral e um bacteriano) disponíveis na Preparação de Referência, ou Padrão Internacional. A concentração de cada anticorpo deve ser, no mínimo, dez vezes maior que no pool do plasma inicial.

Se a imunoglobulina humana normal for preparada para a administração subcutânea, o método de produção deve ser adequado para um rendimento consistente do produto, que cumpre com o teste de função F_c da imunoglobulina. A imunoglobulina humana normal é preparada como uma solução estabilizada, por exemplo, em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v); em solução de glicina 2,25% (p/v); ou, se a preparação é liofilizada, em solução de glicina 6% (p/v). Preparações multidoses devem conter um agente antimicrobiano. Preparações dose única não devem conter agentes antimicrobianos. No produto final a quantidade de agentes antimicrobianos ou estabilizadores usados não deve apresentar efeitos nocivos à saúde. A substância deve ser filtrada através de filtro de retenção das bactérias (filtração esterilizante). A preparação pode subsequentemente ser liofilizada e os frascos vedados sob vácuo ou um gás inerte.

A estabilidade da preparação deve ser demonstrada, por meio de testes adequados, durante o desenvolvimento do estudo de estabilidade.

IDENTIFICAÇÃO

A. Realizar na amostra ensaios de precipitação com uma gama apropriada de soros específicos, de diferentes espécies de animais domésticos. É recomendável que o ensaio seja realizado com soros específicos das proteínas plasmáticas de cada espécie de animal doméstico correntemente utilizado para a preparação de produtos de origem biológica. A imunoglobulina humana normal contém proteínas de origem humana e dá resultados negativos com os soros específicos das proteínas plasmáticas de outras espécies.

B. Realizar na amostra um ensaio de imunoeletroforese segundo técnica apropriada. Usando um antissoro humano normal, comparar o soro humano normal com a amostra diluída, de modo a conter 10 g/L de proteínas. O componente principal da amostra corresponde ao componente IgG do soro humano normal, podendo existir outras proteínas plasmáticas em pequenas quantidades. Se a albumina humana foi adicionada como estabilizante, pode ser visto como um composto importante.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. A preparação líquida é clara ou amarelo pálido ou ligeiramente marrom durante a estocagem, podendo apresentar uma leve turbidez ou uma pequena quantidade de formação de partículas. A preparação liofilizada é um pó ou sólido de massa friável, branco ou ligeiramente amarelado. Para a preparação liofilizada, a reconstituição deve ser de acordo com a rotulagem, imediatamente antes da *Identificação* e outros testes, exceto para *Solubilidade* e *Água*.

pH (5.2.19). 5,0 a 7,2. Diluir a preparação a ser examinada em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) a uma concentração de proteínas de 1% (p/v).

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

Solubilidade. Para a preparação liofilizada, adicionar o volume do diluente de acordo com o rótulo. A preparação dissolve completamente dentro de 20 minutos à temperatura de 20 °C a 25 °C.

Composição proteica. Proceder conforme descrito em *Eletroforese* **(5.2.22)**, utilizar a técnica *Eletroforese de zona*. Utilizar tiras adequadas de gel de acetato de celulose ou de agarose, como meio suporte, e tampão barbital pH 8,6 como solução eletrolítica. Se o acetato de celulose é o material suporte, utilizar o método descrito a seguir. Se é o gel de agarose, e porque ele é normalmente parte do sistema automático, utilizar o manual de instrução do fabricante.

Solução da amostra: diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração de 50 g/L em proteínas.

Solução de referência: reconstituir um padrão de referência para eletroforese de imunoglobulina humana e diluir com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até a concentração de 5% (p/v) em proteínas.

Adequabilidade do sistema: no eletroforetograma obtido com a *Solução de referência*, em gel de acetato de celulose ou de agarose, a proporção de proteínas na banda principal está de acordo com os limites estabelecidos na bula que acompanha a preparação de referência.

Procedimento: aplicar na tira 2,5 μL da *Solução amostra* ou 0,25 μL por mililitro se for utilizada uma tira mais estreita. Para outras tiras, aplicar da mesma maneira o mesmo volume da *Solução de referência*. Aplicar um campo elétrico adequado, de forma que a banda de albumina do soro humano, aplicada na tira controle, migre, no mínimo, 30 mm. Corar a tira com negro de amido 10B SR por cinco minutos. Descolorar com uma mistura de ácido acético glacial e álcool metílico (10:90), de forma que o fundo esteja livre de coloração. Desenvolver a transparência das tiras com uma mistura de ácido acético glacial e álcool metílico (19:81). Medir a absorvância da banda em instrumentos de resposta linear e comprimento de onda de 600 nm. Calcular o resultado como a média de três medidas de cada banda.

A mobilidade da proteína não é maior que 10% da banda proteica principal.

Distribuição do tamanho molecular. 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 600 mm de comprimento e 7,5 mm de diâmetro interno ou de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel hidrofílica (de um grau adequado para fracionamento de

proteínas globulares, com massa molecular relativa entre 10 000 e 500 000); fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 4,873 g de fosfato de sódio dibásico di-hidratado, 1,741 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado, 11,688 g de cloreto de sódio e 50 mg de azida sódica em 1000 mL de água.

Solução amostra: diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até concentração apropriada ao sistema cromatográfico utilizado. A faixa de concentração de 4 g/L a 12 g/L e a injeção de 50 μg a 600 μg de proteínas é normalmente adequada.

Solução padrão: diluir o padrão de imunoglobulina humana com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração em proteínas igual à da *Solução amostra*.

No cromatograma obtido com a *Solução padrão*, o pico principal corresponde ao monômero de IgG e há um pico correspondente ao dímero, com retenção relativa do pico principal de 0,85. Identificar os picos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* por comparação com o cromatograma da *Solução padrão*. Nenhum pico com o tempo de retenção menor que o do dímero corresponde aos polímeros e agregados. A preparação a ser examinada cumpre com o teste se o cromatograma obtido com a *Solução amostra* atender aos seguintes itens:

• o tempo de retenção relativa, em relação ao pico correspondente do cromatograma obtido com a *Solução padrão*, for de 1 ± 0,02 para o monômero e o dímero;
• *área sob o pico*: a soma das áreas sob os picos do monômero e dímero representa, no mínimo, 85% da área total do cromatograma e a soma das áreas sob os picos dos polímeros e agregados representa, no máximo, 10% da área total do cromatograma. Essa exigência não se aplica às preparações adicionadas de albumina como estabilizante. No caso de preparações estabilizadas com albumina, realiza-se um ensaio de distribuição do tamanho molecular durante a fabricação, antes da adição do estabilizante.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinada por um método apropriado como *Método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. No máximo 2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, um volume correspondente a 1 mL de imunoglobulina.

DOSEAMENTO

Anticorpo anti-D

Se a imunoglobulina normal for destinada à administração subcutânea deve cumprir com a *Determinação da imunoglobulina humana anti-D* **(5.5.1.15)** na imunoglobulina normal para administração intravenosa.

Anticorpo para o antígeno de superfície da hepatite B

Determinar por um *Método imunoquímico* **(5.6)** apropriado. No mínimo, 0,5 UI/g de imunoglobulina.

Anticorpo para vírus da hepatite A

Se a intenção for usar para a profilaxia da Hepatite A, deve cumprir com os seguintes requerimentos adicionais. Determinar o conteúdo de anticorpos por comparação com a preparação de um padrão de referência calibrado em UI, usando um *Método imunoquímico* **(5.6)** apropriado, específico e sensível.

A Unidade Internacional é a quantidade de atividade do padrão internacional de imunoglobulina anti-hepatite A. O equivalente na Unidade do padrão internacional está declarado pela Organização Mundial de Saúde.

O padrão de referência da imunoglobulina humana anti-hepatite A é calibrado em unidades internacionais em comparação com o padrão internacional. A potência declarada é, no mínimo, 100 UI/mL. A potência estimada não é menor que a potência declarada. O intervalo de confiança (P = 0,95) da potência estimada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 125%.

Hemaglutininas anti-A e anti-B

Realizar o teste se a imunoglobulina humana normal é para a preparação subcutânea. Proceder conforme descrito em *Determinação de títulos de hemaglutininas anti-A e anti-B* **(5.5.1.9)**. Diluir a preparação a ser examinada na concentração de 30 g/L de imunoglobulina antes da preparação da série de diluições a serem usadas no teste. A aglutinação é inferior à diluição de 1:64.

Proteínas totais

Proceder conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. Diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração de cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. A um tubo de centrífuga de fundo redondo, adicionar 2 mL dessa solução, 2 mL de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico isento de nitrogênio e água (1:30). Agitar e centrifugar durante cinco minutos. O líquido sobrenadante deve ser decantado possibilitando que o tubo seja enxuto sobre um papel de filtro. Calcular o teor em proteínas multiplicando a quantidade de nitrogênio por 6,25. O teor em proteínas é, no mínimo, 100 g/L e, no máximo, 180 g/L. Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 100% da quantidade indicada no rótulo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar a preparação líquida em recipiente de vidro incolor, ao abrigo da luz e à temperatura indicada no rótulo. Conservar a preparação liofilizada em recipiente de vidro incolor, à pressão reduzida ou sob gás inerte, ao abrigo da luz e a uma temperatura que não ultrapasse 25 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve declarar:

- para a preparação líquida, o volume da preparação e o conteúdo proteico em g/L;
- para a preparação liofilizada, a quantidade de proteínas no frasco;
- a via de administração;

- para a preparação liofilizada, o nome ou composição e o volume do diluente para reconstituição a ser adicionado;
- quando aplicável, que a preparação é adequada para o uso na profilaxia da infecção da hepatite A;
- quando aplicável, a atividade da imunoglobulina anti-hepatite A em UI/mL;
- nas preparações multidose, o nome e a concentração do agente antimicrobiano.

IMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL PARA ADMINISTRAÇÃO POR VIA INTRAVENOSA

Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum

A imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa é uma preparação estéril, líquida ou liofilizada, contendo imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina G (IgG). Podem estar presentes outras proteínas. Contém anticorpos IgG de indivíduos normais. Essa monografia não se aplica às preparações produzidas por um processo que tenha por fim obter uma preparação contendo fragmentos ou quimicamente modificada. A imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa é obtida a partir de plasma que satisfaz às exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*. Não é adicionado ao plasma utilizado nenhum antimicrobiano.

O método de preparação compreende uma ou várias etapas que eliminam ou inativam os agentes infecciosos conhecidos. Deve-se demonstrar que os resíduos no produto final das substâncias eventualmente utilizadas nos processos destinados a inativar os vírus não têm qualquer efeito indesejável nos pacientes tratados com a imunoglobulina. A inocuidade da preparação pronta para administração por via intravenosa é demonstrada por ensaios apropriados em animais e por um estudo durante os ensaios clínicos. A imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa é preparada a partir do plasma recolhido de, no mínimo, 1000 doadores, segundo um método que possibilite obter uma preparação que:

• não transmitirá infecção;
• na concentração em imunoglobulina de 5% (p/v) contenha, pelo menos, dois anticorpos (um viral e outro bacteriano) para os quais exista um padrão internacional ou uma preparação de referência; a concentração de tais anticorpos é, pelo menos, três vezes superior à da matéria-prima inicial;
• tenha uma distribuição definida em subclasses da imunoglobulina G;
• satisfaça ao teste de *Determinação da função Fc da imunoglobulina* **(5.5.1.16)**.

A imunoglobulina humana normal para administração por via intravenosa é preparada, quer na forma de solução estabilizada, quer liofilizada. Pode ser adicionada de um estabilizante. Nos dois casos, a preparação é submetida a uma filtração esterilizante. Nenhum conservante antimicrobiano é adicionado durante o fracionamento do plasma e no *pool* de plasma final. A estabilidade do produto final é demonstrada por ensaios realizados durante os estudos de desenvolvimento.

IDENTIFICAÇÃO

A. Realizar na amostra ensaios de precipitação com uma gama apropriada de soros específicos de diferentes espécies de animais domésticos. É recomendável que o ensaio seja realizado com soros específicos das proteínas plasmáticas de cada espécie de animal doméstico correntemente utilizado para a preparação de produtos de origem biológica. A imunoglobulina humana normal contém proteínas de origem humana e dá resultados negativos com os soros específicos das proteínas plasmáticas de outras espécies.

B. Realizar na amostra um ensaio de imunoeletroforese segundo técnica apropriada descrita em *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**. Utilizar um antissoro humano normal, comparar o soro humano normal com a amostra diluída de modo a conter 10 g/L de proteínas. O componente principal da amostra corresponde ao componente IgG do soro humano normal, podendo existir outras proteínas plasmáticas em pequenas quantidades. Se a albumina humana foi adicionada como estabilizante, pode ser visível como um composto importante.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. A preparação líquida é límpida ou ligeiramente opalescente e incolor ou amarela clara. A preparação liofilizada é um pó branco ou ligeiramente amarelado ou uma massa sólida e friável. No caso de uma preparação liofilizada, a sua reconstituição é feita segundo as indicações do rótulo, imediatamente antes de realizar a identificação e os ensaios, salvo os de solubilidade e de teor em água.

pH (5.2.19). Entre 4,0 e 7,4. Diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até a concentração de 1% (p/v) em proteínas.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

Solubilidade. No caso de uma amostra liofilizada, adicionar o volume do diluente indicado no rótulo. A amostra dissolve-se, completamente, em temperatura de 20 °C a 25 °C, em 30 minutos.

Composição em proteínas. Proceder conforme descrito em *Eletroforese* **(5.2.22)**, utilizar a técnica *Eletroforese de zona*. Utilizar tiras de gel de acetato de celulose apropriadas, como suporte, e tampão barbital pH 8,6, como solução de eletrólito.

Solução amostra: diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração de 3% (p/v) em imunoglobulina.

Solução padrão: reconstituir um padrão de referência para eletroforese de imunoglobulina humana e diluir com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até a concentração de 3% (p/v) em proteínas.

Aplicar numa tira 4 µL da *Solução amostra* em *spot* de 10 mm ou aplicar 0,4 µL por milímetro, se utilizar uma tira mais estreita. Numa outra tira aplicar, nas mesmas condições, o mesmo volume da *Solução padrão*. Aplicar um campo elétrico apropriado, de modo que a banda da albumina do soro humano normal em um eletroforetograma padrão migre, pelo menos, 30 mm. Tratar as tiras com negro de amido 10B SR durante cinco minutos e com uma mistura de 10 volumes de ácido acético glacial com 90 volumes de álcool metílico durante o tempo estritamente necessário para obter a descoloração da moldura. Provocar a transparência da moldura com uma mistura de 19 volumes de ácido acético glacial com 81 volumes de álcool metílico. Determinar a absorvância das bandas em 600 nm com auxílio de um aparelho que nesse comprimento de onda dê resposta linear no intervalo de medida. Realizar três determinações sobre cada tira e calcular a média das leituras em cada tira. No eletroforetograma da amostra, no máximo 5% das proteínas podem ter mobilidade diferente da banda principal. Esse limite não é aplicável se foi adicionada albumina à preparação, como estabilizante; no caso de preparações estabilizadas com albumina, realiza-se um ensaio de composição em proteínas durante a produção, antes de adicionar o estabilizante. O ensaio só é válido se no eletroforetograma obtido com a *Solução padrão*, a proporção de proteínas contidas na banda principal estiver compreendida entre os limites indicados na literatura que acompanha a preparação do padrão de referência.

Distribuição do tamanho molecular. 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 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel hidrófila para cromatografia. Fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 4,873 g de fosfato de sódio dibásico di-hidratado, 1,741 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado, 11,688 g de cloreto de sódio e 50 mg de azida sódica em 1000 mL de água.

Solução amostra: diluir quantidade da amostra em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até concentração apropriada ao sistema cromatográfico utilizado. Geralmente são convenientes uma concentração entre 4 g/L e 12 g/L e a injeção de 500 μg a 600 μg de proteína.

Solução padrão: diluir o padrão de imunoglobulina humana com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração em proteínas igual à da *Solução amostra*.

Injetar a *Solução amostra* e a *Solução padrão.* No cromatograma obtido com a *Solução padrão*, o pico principal corresponde ao monômero IgG e aparece um pico correspondente ao dímero com um tempo de retenção em relação ao monômero de cerca de 0,85. Identifique os picos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* por comparação com o cromatograma obtido com a *Solução padrão*; os picos com tempos de retenções menores que o do dímero correspondem aos polímeros e aos agregados. A amostra satisfaz ao ensaio se no cromatograma obtido com a *Solução amostra* o tempo de retenção, em relação ao pico correspondente do cromatograma obtido com a *Solução padrão*, for de 1 ± 0,02 para o monômero e o dímero; e se a soma do monômero e do dímero representar, no mínimo, 90,0% da área total do cromatograma e os polímeros e agregados representarem, no máximo, 3,0% da área total. Essa exigência não se aplica às preparações a que se adicionou albumina como estabilizante; no caso de preparações estabilizadas com albumina, realizar um ensaio de distribuição do tamanho molecular durante a fabricação, antes da adição do estabilizante.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um dos métodos: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. No máximo 2,0%.

Ativador da pré-calicreína. Proceder conforme descrito em *Determinação do título do ativador da pré-calicreína* **(5.5.1.11)**. No máximo, 35 UI/mL, calculado em relação a uma diluição da amostra contendo 30 g/L de imunoglobulina.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho um volume correspondente a 1 mL de imunoglobulina, por quilograma de massa corporal.

DOSEAMENTO

Anticorpos contra o antígeno de superfície da hepatite-B

O teor da amostra em anticorpos contra o antígeno de superfície da hepatite-B, determinado por um *Método imunoquímico* **(5.6)** apropriado, é, no mínimo, 0,5 UI/g de imunoglobulina.

Atividade anticomplementar

Proceder conforme descrito em *Determinação da atividade anticomplementar da imunoglobulina* **(5.5.1.13)**. A proporção de complemento consumido é de, no máximo, 50,0% (1 CH_{50} por miligrama de imunoglobulina).

Hemaglutininas anti-A e anti-B

Proceder conforme descrito em *Determinação de títulos de hemaglutininas anti-A e anti-B* **(5.5.1.9)**. Realizar os ensaios das hemaglutininas anti-A e anti-B. Se a amostra contiver um teor de imunoglobulinas superior a 30 g/L, diluir até essa concentração antes de preparar as diluições para o ensaio. As diluições a 1/64 não apresentam sinais de aglutinação.

Imunoglobulina A

Utilizar *Método imunoquímico* **(5.6)** apropriado. O conteúdo de imunoglobulina A não é superior ao indicado no conteúdo do rótulo.

Proteínas totais

Diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração de cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. Num tubo de centrífuga de fundo redondo introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de uma mistura de um volume de ácido sulfúrico isento de nitrogênio com 30 volumes de água. Agitar, centrifugar durante cinco minutos. O líquido sobrenadante deve ser decantado, possibilitando que o tubo seja enxuto sobre um papel de filtro. Dosar o nitrogênio no resíduo pelo método de *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. Calcular o teor em proteínas multiplicando a quantidade de nitrogênio por 6,25. A preparação contém, no mínimo, 30 g/L e entre 90,0% e 110,0% da quantidade de proteína indicada no rótulo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar a preparação líquida em recipiente de vidro incolor, ao abrigo da luz e à temperatura indicada no rótulo. Conservar a preparação liofilizada em recipiente de vidro incolor, a pressão reduzida ou sob gás inerte, ao abrigo da luz e a uma temperatura que não ultrapasse 25 °C.

ROTULAGEM

No rótulo indica-se:

- no caso de um produto líquido, o volume da preparação no recipiente e o teor em proteínas expresso em gramas por litro;
- no caso de um produto liofilizado, a quantidade de proteínas no frasco;
- a quantidade de imunoglobulina no frasco;
- a via de administração;
- as condições de conservação;
- o prazo de validade;
- no caso do produto liofilizado, o nome ou a composição e o volume do diluente;
- a distribuição das subclasses da imunoglobulina G na preparação;
- nos casos apropriados, a quantidade de albumina adicionada como estabilizante;
- o teor máximo de imunoglobulina A.

MISTURAS DE PLASMA HUMANO EXCEDENTE TRATADO POR INATIVAÇÃO VIRAL

Plasma humanum collectum excederem deinde conditum ad viros exstinguendos

Preparação congelada ou liofilizada, estéril, apirogênica, obtida a partir de plasma humano excedente proveniente de doadores do mesmo grupo sanguíneo ABO e Rh(Du). A preparação é descongelada ou reconstituída antes de seu uso, de modo a obter uma solução injetável. O plasma humano utilizado deve satisfazer às exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*.

As unidades de plasma destinadas à produção são congeladas a uma temperatura igual ou inferior a -30 °C dentro das primeiras seis horas seguintes à separação das frações celulares sanguíneas e, no máximo, nas 24 horas que se seguem à coleta. A mistura é preparada a partir de unidades de plasma pertencentes ao mesmo grupo sanguíneo ABO e Rh(Du).

A mistura de plasma é examinada a partir de métodos de sensibilidade e especificidade apropriados, quanto à presença do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), de anticorpos contra o vírus da hepatite C e de anticorpos contra o HIV. Nesses ensaios, a mistura do plasma deve fornecer resultados negativos.

A mistura de plasma também deve ser submetida à pesquisa do RNA do vírus da hepatite C, conforme descrito em *Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos* **(5.5.1.10)**, devidamente validada. O ensaio inclui um padrão positivo com 100 UI de RNA do vírus da hepatite C por mililitro e, para identificar a presença eventual de inibidores, um padrão interno preparado por adição de um marcador apropriado à amostra da mistura de plasma. O ensaio só é válido se o padrão positivo for reativo ou se o resultado obtido com o padrão interno não indicar a presença de inibidores. A mistura satisfaz ao ensaio se não for reativa para o RNA do vírus da hepatite C.

A mistura de plasma também deve ser submetida à pesquisa do DNA do vírus B19, conforme descrito em *Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos* **(5.5.1.10)**, devidamente validada. O *pool* deve conter, no máximo, 10 UI/µL. O ensaio inclui um controle positivo com 10 UI de DNA por microlitro do vírus B19 e, para identificar a presença eventual de inibidores, um padrão interno preparado por adição de um marcador apropriado à amostra da mistura de plasma. O ensaio só é válido se o padrão positivo for reativo ou se o resultado obtido com o padrão interno não indicar a presença de inibidores.

O método de preparação é realizado de modo a evitar a ativação de qualquer fator de coagulação e, assim, limitar o seu potencial de ação trombogênico. Compreende uma ou várias etapas para as quais se tenha demonstrado a eliminação ou inativação de agentes infecciosos conhecidos. No caso de serem utilizadas substâncias para inativação viral durante a produção, o processo de purificação subsequente deve ser validado, de modo a demonstrar que a concentração destas substâncias se encontra em um nível apropriado e que os eventuais resíduos não comprometem a inocuidade da preparação.

O método típico utilizado para a inativação de vírus envelopados é o processo solvente-detergente, que consiste no tratamento com uma mistura de fosfato de tributila e de octoxinol 10; em seguida, esses reagentes são removidos por extração em fase oleosa ou sólida, de modo a que o teor residual no produto final seja inferior a 2 µg/mL, para o fosfato de tributila e a 5 µg/mL para o octoxinol 10. Não deve ser adicionado nenhum conservante antimicrobiano.

A solução é filtrada em membrana esterilizante, distribuída assepticamente nos recipientes finais e imediatamente congelada. Os recipientes finais são compostos por material plástico, satisfazendo às

exigências para *Recipientes de plástico* **(6.2)**; ou vidro, satisfazendo às exigências para os *Recipientes de vidro* **(6.1)**. Pode, em seguida, ser liofilizada.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir ou descongelar a amostra como indicado no rótulo, imediatamente antes de realizar a identificação, testes e ensaios.

A. Examinar a amostra por eletroforese, comparando com o plasma humano normal. Os eletroforetogramas apresentam as mesmas bandas.

B. Realizar ensaios de precipitação a partir de uma gama apropriada de soros específicos de espécies de animais domésticos. É aconselhável que o ensaio seja realizado com soros específicos de proteínas plasmáticas de cada uma das espécies domésticas normalmente utilizadas no país para a preparação de produtos de origem biológica. A amostra contém proteínas de origem humana e dá resultado negativo para as proteínas específicas plasmáticas de outras espécies.

C. A mistura satisfaz a *Determinação do título de hemaglutininas anti-A e anti-B* (ver *Doseamento*).

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Após o seu descongelamento, a preparação apresenta-se como líquido límpido ou ligeiramente opalescente, isenta de partículas sólidas e gelatinosas. A preparação liofilizada apresenta-se como pó branco ou amarelo claro ou sólido friável.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,6.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um dos métodos a seguir: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Determinação da perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. O teor está compreendido dentro dos limites aprovados pelas autoridades competentes.

Citrato. No máximo, 25 mmol/L. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de cátions (9 μm); fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: solução de ácido sulfúrico a 0,051% (p/v).

Solução amostra: diluir a amostra com um volume igual de uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v). Filtrar em filtro de porosidade 0,45 μm.

Solução padrão: dissolver 0,3 g de citrato de sódio em água e diluir a 100 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. O tempo de retenção do citrato é cerca de 10 minutos. Tempo de equilíbrio da coluna: 15 minutos.

Cálcio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Determinar no comprimento de onda de 622 nm. No máximo, 5 mmol/L.

Potássio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Determinar no comprimento de onda de 766,5 nm. No máximo, 5 mmol/L.

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Determinar no comprimento de onda de 589 nm. No máximo, 200 mmol/L.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho 3 mL da amostra por quilograma de massa corporal.

DOSEAMENTO

Anticorpos contra eritrócitos irregulares.

Quando examinada por exame indireto de antiglobulinas, a amostra não diluída não revela sinais de presença de anticorpos contra eritrócitos irregulares.

Anticorpos contra o vírus da hepatite A.

No mínimo 2 UI/mL, determinado de acordo com *Método Imunoquímico* **(5.6)** apropriado. O padrão de imunoglobulina humana da hepatite A é adequado para uso como uma preparação de referência.

Hemaglutininas anti-A e anti-B.

Proceder conforme descrito em *Determinação de títulos de hemaglutininas anti-A e anti-B* **(5.5.1.9)**. A presença das hemaglutininas (anti-A ou anti-B) corresponde ao grupo sanguíneo indicado no rótulo.

Fatores de coagulação ativados.

Proceder conforme descrito em *Determinação de fatores da coagulação ativados* **(5.5.1.8)**. Realizar o ensaio com 0,1 mL da amostra em vez de diluições a 1/10 e 1/100. O tempo de coagulação no tubo que contém a amostra é, no mínimo, 150 segundos. Cumpre o teste.

Fator V.

Com tampão de imidazol pH 7,4, preparar, de preferência em duplicata, três diluições a 1/10 e a 1/40 da amostra. Para cada diluição proceder do seguinte modo: misturar 0,1 mL de substrato de plasma deficiente em Fator V, 0,1 mL da diluição da amostra, 0,1 mL de reagente de tromboplastina e 0,1 mL de solução de cloreto de cálcio a 0,35% (p/v). Registrar o tempo de coagulação, ou seja, o intervalo entre o momento da adição da solução de cloreto de cálcio e os primeiros sinais de formação de fibrina. Observar mediante aparelho apropriado. Determinar, em duplicata e nas mesmas

condições, os tempos de coagulação de quatro diluições entre 1/10 e 1/80 de plasma humano normal no tampão de imidazol pH 7,4. Uma unidade de Fator V corresponde à atividade de 1 mL de plasma humano normal. O plasma humano normal é preparado a partir de mistura de unidades de plasma provenientes de pelo menos 30 doadores e é conservado a uma temperatura igual ou inferior a -30 °C. Verificar a validade do ensaio e calcular a atividade da amostra por meio de *Procedimentos estatísticos aplicáveis aos ensaios biológicos* **(8.2)**. A atividade determinada é, no mínimo, 0,5 unidades/mL. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 120%.

Fator VIII.

Proceder conforme descrito em *Determinação do fator VIII de coagulação humana liofilizado* **(5.5.1.7)** utilizando um plasma padrão calibrado em relação ao padrão internacional do fator VIII da coagulação sanguínea humana. A atividade determinada não é inferior a 0,5 UI/mL. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 120%.

Proteínas totais.

Diluir a amostra em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), de modo a obter uma solução que contenha cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. Num tubo de centrífuga de fundo redondo, introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de uma solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico 1 volume, isento de nitrogênio, e 30 volumes de água. Agitar, centrifugar durante cinco minutos, decantar o líquido sobrenadante e deixar escoar com o tubo invertido sobre um papel de filtro. Realizar o doseamento do nitrogênio no resíduo por meio do método de digestão com ácido sulfúrico, conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)** e calcular o teor de proteínas multiplicando o resultado por 6,25. O teor em proteínas totais é, no mínimo, 45 g/L.

ROTULAGEM

O rótulo deve indicar o grupo sanguíneo ABO e Rh(Du) e o método utilizado para a inativação viral. Observar a legislação vigente.

MISTURAS DE PLASMA HUMANO TRATADO POR INATIVAÇÃO VIRAL

Plasma humanum collectum deinde conditum ad viros exstinguendos

Preparação congelada ou liofilizada, estéril, apirogênica, obtida a partir de plasma humano proveniente de doadores do mesmo grupo sanguíneo ABO e Rh(Du). A preparação é descongelada ou reconstituída antes de seu uso, de modo a obter uma solução injetável. O plasma humano utilizado deve satisfazer às exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*.

As unidades de plasma destinadas à produção são congeladas a uma temperatura igual ou inferior a -30 °C dentro das primeiras seis horas seguintes à separação das frações celulares sanguíneas e, no máximo, nas 24 horas que se seguem à coleta. A mistura é preparada a partir de unidades de plasma pertencentes ao mesmo grupo sanguíneo ABO e Rh(Du).

A mistura de plasma é examinada a partir de métodos de sensibilidade e especificidade apropriados quanto à presença do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), de anticorpos contra o vírus da hepatite C e de anticorpos contra o HIV. Nesses ensaios, a mistura do plasma deve fornecer resultados negativos.

A mistura de plasma também deve ser submetida à pesquisa do RNA do vírus da hepatite C de acordo com a monografia *Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos* **(5.5.1.10)**, devidamente validada. O ensaio inclui um padrão positivo com 100 UI de RNA do vírus da hepatite C por mililitro e, para identificar a presença eventual de inibidores, um padrão interno preparado por adição de um marcador apropriado à amostra da mistura de plasma. O ensaio só é válido se o padrão positivo for reativo ou se o resultado obtido com o padrão interno não indicar a presença de inibidores. A mistura satisfaz ao ensaio se não for reativa para o RNA do vírus da hepatite C.

A mistura de plasma também deve ser submetida à pesquisa do DNA do vírus B19 de acordo com a monografia *Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos* **(5.5.1.10)**, devidamente validada. O *pool* deve conter no máximo 10 UI/µL. O ensaio inclui um controle positivo com 10 UI de DNA por microlitro do vírus B19, e para identificar a presença eventual de inibidores, um padrão interno preparado por adição de um marcador apropriado à amostra da mistura de plasma. O ensaio só é válido se o padrão positivo for reativo ou se o resultado obtido com o padrão interno não indicar a presença de inibidores.

O método de preparação é realizado de modo a evitar a ativação de qualquer fator de coagulação e, assim, limitar o seu potencial de ação trombogênico. Compreende uma ou várias etapas para as quais se tenha demonstrada a eliminação ou inativação de agentes infecciosos conhecidos. No caso de serem utilizadas substâncias para inativação viral durante a produção, o processo de purificação subsequente deve ser validado, de modo a demonstrar que a concentração destas substâncias se encontra em um nível apropriado e que os eventuais resíduos não comprometem a inocuidade da preparação.

O método típico utilizado para a inativação de vírus envelopados é o processo solvente-detergente, que consiste no tratamento com uma mistura de fosfato de tributila e de octoxinol 10; em seguida, esses reagentes são removidos por extração em fase oleosa ou sólida, de modo a que o teor residual no produto final seja inferior a 2 µg/mL para o fosfato de tributila e a 5 µg/mL para o octoxinol 10. Não deve ser adicionado nenhum conservante antimicrobiano.

A solução é filtrada em membrana esterilizante, distribuída assepticamente nos recipientes finais e imediatamente congelada. Os recipientes finais são compostos por material plástico, satisfazendo às

exigências para *Recipientes de plástico* **(6.2)**; ou vidro, satisfazendo às exigências para os *Recipientes de vidro* **(6.1)**. Pode, em seguida, ser liofilizada.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir ou descongelar a amostra como indicado no rótulo, imediatamente antes de realizar a identificação, testes e ensaios.

A. Examinar a amostra por eletroforese, comparando com o plasma humano normal. Os eletroforetogramas apresentam as mesmas bandas.

B. Realizar ensaios de precipitação a partir de uma gama apropriada de soros específicos de espécies de animais domésticos. É aconselhável que o ensaio seja realizado com soros específicos de proteínas plasmáticas de cada uma das espécies domésticas normalmente utilizadas no país para a preparação de produtos de origem biológica. A amostra contém proteínas de origem humana e dá resultado negativo para as proteínas específicas plasmáticas de outras espécies.

C. A mistura satisfaz a *Determinação do título de hemaglutininas anti-A e anti-B* (ver *Doseamento*).

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Após o seu descongelamento, a solução apresenta-se como líquido límpido ou ligeiramente opalescente, isenta de partículas sólidas e gelatinosas. A preparação liofilizada apresenta-se como pó branco ou amarelo claro ou sólido friável.

pH (5.2.19). 6,5 a 7,6.

Osmolalidade (5.2.28). No mínimo, 240 mosmol/kg.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Água. Determinar por um dos métodos a seguir: *Determinação da água pelo método semimicro* **(5.2.20.3)**, *Determinação da perda por dessecação* **(5.2.9.1)** ou por *Espectrofotometria de absorção no infravermelho* **(5.2.14)**. O teor está compreendido dentro dos limites aprovados pelas autoridades competentes.

Citrato. No máximo, 25 mmol/L. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* **(5.2.17.4)**. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de cátions (9 μm); fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: solução de ácido sulfúrico a 0,051% (p/v).

Solução amostra: diluir a amostra com um volume igual de uma solução de cloreto de sódio 0,9% (p/v). Filtrar em filtro de porosidade 0,45 μm.

Solução padrão: dissolver 0,3 g de citrato de sódio em água e diluir a 100 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da Solução padrão e da Solução amostra. O tempo de retenção do citrato é cerca de 10 minutos. O tempo de equilíbrio da coluna é cerca de 15 minutos.

Cálcio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Determinar no comprimento de onda de 622 nm. No máximo, 5 mmol/L.

Potássio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Determinar no comprimento de onda de 766,5 nm. No máximo, 5 mmol/L.

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Determinar no comprimento de onda de 589 nm. No máximo, 200 mmol/L.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Injetar em cada coelho 3 mL da amostra por quilograma de massa corporal. Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Anticorpos contra eritrócitos irregulares.

Quando examinada por exame indireto de antiglobulinas, a amostra não diluída não revela sinais de presença de anticorpos contra eritrócitos irregulares.

Anticorpos contra o vírus da hepatite A.

No mínimo 2 UI/mL, determinado de acordo com o *Método imunoquímico* **(5.6)** apropriado. O padrão de imunoglobulina humana da hepatite A é adequado para uso como uma preparação de referência.

Hemaglutininas anti-A e anti-B.

Proceder conforme descrito em *Determinação de títulos de hemaglutininas anti-A e anti-B* **(5.5.1.9)**. A presença das hemaglutininas (anti-A ou anti-B) corresponde ao grupo sanguíneo indicado no rótulo.

Fatores de coagulação ativados.

Proceder conforme descrito em *Determinação de fatores da coagulação ativados* **(5.5.1.8)**. Realizar o ensaio com 0,1 mL da amostra em vez de diluições a 1/10 e 1/100. O tempo de coagulação no tubo que contém a amostra é, no mínimo, 150 segundos. Cumpre o teste.

Fator V.

Com tampão imidazol pH 7,4, preparar, de preferência em duplicata, três diluições a 1/10 e a 1/40 da amostra. Para cada diluição proceder do seguinte modo: misturar 0,1 mL de substrato de plasma deficiente em fator V, 0,1 mL da diluição da amostra, 0,1 mL de reagente de tromboplastina e 0,1 mL de solução de cloreto de cálcio a 0,35% (p/v). Registrar o tempo de coagulação, ou seja, o intervalo entre o momento da adição da solução de cloreto de cálcio e os primeiros sinais de formação de fibrina. Observar mediante aparelho apropriado. Determinar, em duplicata e nas mesmas condições,

os tempos de coagulação de quatro diluições entre 1/10 e 1/80 de plasma humano normal no tampão imidazol pH 7,4. Uma unidade de Fator V corresponde à atividade de 1 mL de plasma humano normal. O plasma humano normal é preparado a partir de mistura de unidades de plasma provenientes de pelo menos 30 doadores e é conservado a uma temperatura igual ou inferior a -30 °C. Verificar a validade do ensaio e calcular a atividade da amostra por meio de *Procedimentos estatísticos aplicáveis aos ensaios biológicos* **(8.2)**. A atividade determinada é, no mínimo, 0,5 unidades/mL. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 120%.

Fator VIII.

Proceder conforme descrito em *Determinação do fator VIII de coagulação humana liofilizado* **(5.5.1.7)** utilizando um plasma padrão calibrado em relação ao padrão internacional do fator VIII da coagulação sanguínea humana. A atividade determinada é, no mínimo, 0,5 UI/mL. O intervalo de confiança (P = 0,95) da atividade determinada é, no mínimo, 80% e, no máximo, 120%.

Proteínas totais.

Diluir a amostra em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), de modo a obter uma solução que contenha cerca de 15 mg de proteínas em 2 mL. Num tubo de centrífuga de fundo redondo, introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de uma solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico 1 volume, isento de nitrogênio, e 30 volumes de água. Agitar, centrifugar durante cinco minutos, decantar o líquido sobrenadante e deixar escoar com o tubo invertido sobre um papel de filtro. Realizar o doseamento do nitrogênio no resíduo por meio do método de digestão com ácido sulfúrico, conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**, e calcular o teor de proteínas multiplicando o resultado por 6,25. O teor em proteínas totais é, no mínimo, 45 g/L.

ROTULAGEM

O rótulo deve indicar o grupo sanguíneo ABO e Rh(Du) e o método utilizado para a inativação viral. Observar a legislação vigente.

PLASMA HUMANO PARA FRACIONAMENTO
Plasma humanum ad separationem

Plasma humano para fracionamento é a parte líquida remanescente do sangue total, após separação das frações celulares sanguíneas, utilizando sistema fechado de coleta de sangue apropriado, que cumpra os requisitos exigidos para os recipientes plásticos utilizados na coleta do sangue humano, contendo uma solução anticoagulante conservadora e preservadora ou separada por filtração contínua ou por centrifugação do sangue anticoagulado no procedimento de aférese, para obtenção de produtos derivados do plasma humano.

DOADORES

Somente o plasma de um doador saudável e cuidadosamente selecionado que, após exames médicos, testes sanguíneos laboratoriais e estudo de sua história médica, esteja isento de agentes infecciosos transmissíveis pelo plasma pode ser aceito para coleta de seu plasma para fracionamento. Reportar-se à legislação vigente para produtos hemoterápicos.

Imunização dos doadores. Plasma proveniente de imunização deliberada de doadores para a obtenção de gamaglobulinas hiperimunes pode ser utilizado para fracionamento, quando quantidades suficientes desse material não puderem ser obtidas de doadores naturalmente imunizados. Recomenda-se que a imunização dos doadores seja realizada em conformidade com os procedimentos adotados pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

Registro. Dados e informações sobre os doadores e doações realizadas devem ser mantidos, de forma que possibilite a confidencialidade da identidade do doador, a origem de cada doação no *pool* de plasma e a rastreabilidade correspondente aos testes laboratoriais.

Testes laboratoriais. Testes laboratoriais devidamente validados são realizados a cada doação, para detectar marcadores virais e outros agentes infecciosos, como os descritos a seguir.

A. Anticorpos contra o vírus tipo 1 e tipo 2 da imunodeficiência humana (anti-HIV-1 e anti-HIV-2).

B. Antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg).

C. Anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV).

Os métodos analíticos utilizados devem apresentar sensibilidade e especificidade adequadas. Se um resultado positivo repetido for confirmado em qualquer um dos testes a doação deve ser rejeitada.

UNIDADES INDIVIDUAIS DE PLASMA

O plasma deve ser preparado por um método que remova completamente, tanto quanto possível, as demais frações celulares, por centrifugação do sangue total. Deve ser obtido a partir do sangue total ou por aférese. O plasma deve ser separado de suas células por um método desenvolvido para prevenir a introdução de micro-organismos. Nenhum agente antibacteriano ou antifúngico pode ser adicionado ao plasma. Os sistemas de envase para coleta e processamento do sangue humano devem satisfazer às exigências para os sistemas fechados de coleta de sangue humano, devendo prevenir qualquer possibilidade de contaminação.

Se duas ou mais unidades forem misturadas antes do congelamento, a operação deve ser feita utilizando-se conectores estéreis ou sob condições assépticas, com recipientes que não tenham sido previamente utilizados.

Quando obtido por plasmaférese ou sangue total (após a separação dos elementos celulares), o plasma pode ser destinado à recuperação de proteínas lábeis, quando congelado dentro das 24 horas desde a coleta, com resfriamento rápido, sob condições validadas, para assegurar que a temperatura de -25 °C ou inferior seja atingida no interior de cada unidade de plasma dentro de 12 horas do início da inserção no congelador.

Quando obtido por plasmaférese, o plasma destinado somente para a recuperação de proteínas não-lábeis deve ser congelado por resfriamento rápido em câmara fria a -20 °C ou inferior, tão logo quanto possível, não ultrapassando 24 horas após a coleta.

Quando obtido por sangue total, separado dos elementos celulares, o plasma destinado somente para a recuperação de proteínas não-lábeis deve ser congelado por resfriamento rápido, em câmara fria a -20 °C ou inferior, tão logo quanto possível, não ultrapassando 72 horas após a coleta. Não é necessário determinar o teor de proteínas totais e fator VIII, descritos em *Doseamento*, em cada unidade de plasma. Essas determinações são parâmetros das boas práticas de fabricação, sendo o teste *fator VIII* relevante para uso nas preparações de concentrados de proteínas lábeis.

O conteúdo proteico total em cada unidade de plasma depende do conteúdo de proteínas no soro do doador e do grau de diluição inerente ao procedimento de doação.

Quando o plasma é obtido de um doador selecionado e utilizando uma proporção adequada da solução anticoagulante conservadora e preservadora, o conteúdo proteico total obtido se encontra no limite mínimo de 50 g/L. Se o volume de sangue ou plasma coletado junto com a solução anticoagulante conservadora e preservadora for menor do que o estabelecido, o plasma resultante não é necessariamente inadequado para o fracionamento. O objetivo pretendido com as boas práticas de fabricação deve ser atingir o limite prescrito para todas as doações normais.

A preservação do fator VIII da coagulação humana depende do procedimento da coleta e, subsequentemente, do manuseio da unidade de plasma. Com boas práticas, 0,7 UI/mL pode ser usualmente alcançada nas unidades de plasma, no entanto unidades de plasma com atividades de fator VIII inferior ainda podem ser adequadas para a produção de concentrados de fatores de coagulação. O objetivo pretendido com as boas práticas de fabricação é preservar, no máximo possível, as proteínas lábeis.

MISTURAS DE PLASMA (POOL DE PLASMA)

Durante a fabricação de derivados plasmáticos, a primeira mistura do *pool* de plasma (por exemplo, depois da remoção do crioprecipitado) deve ser testada para o antígeno de superfície do vírus B da hepatite (HBsAg) e para anticorpos contra HIV utilizando métodos de sensibilidade e especificidade adequados. Os resultados devem ser negativos em todos os ensaios.

Também deve ser realizado um ensaio para RNA do vírus da hepatite C, utilizando uma técnica de amplificação de ácidos nucleicos validada. No ensaio incluem-se um controle positivo com 100 UI/mL de RNA do vírus da hepatite C e, para testar inibidores, um controle interno preparado pela adição do marcador adequado a uma amostra de pool de plasma. O ensaio não é válido se o controle positivo não for reativo ou se o resultado obtido indicar a presença de inibidores.

A mistura de plasma satisfaz o ensaio, se não for reativa para o RNA do vírus da hepatite C. O teste deve ser realizado comparando com um padrão internacional reconhecido pela OMS.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Antes do congelamento, o plasma para fracionamento, um líquido claro ou levemente turvo, sem sinais de hemólise visíveis, pode variar em cor, de um tom levemente amarelo a esverdeado.

DOSEAMENTO

Fator VIII:C

Proceder conforme descrito em *Determinação* do *fator VIII da coagulação sanguínea humana liofilizado* **(5.5.1.7)**. Realizar o teste utilizando um *pool* de plasma com, no mínimo, 10 unidades da amostra de plasma. Se necessário, descongelar as amostras a serem examinadas a uma temperatura que não exceda a 37 °C. Utilizar um plasma de referência calibrado contra um *Padrão Internacional de fator VIII*. A atividade não é menor que 0,7 UI/mL.

Proteínas totais

Proceder conforme descrito em *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)**. Realizar o teste utilizando uma mistura com, no mínimo, 10 unidades de plasma. Diluir a mistura de plasma com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v), de forma a obter uma solução contendo cerca de 15 mg de proteína em 2 mL. A um tubo de centrífuga de fundo arredondado, adicionar 2 mL dessa solução, 2 mL de solução de molibdato de sódio a 7,5% (p/v) e 2 mL de mistura de ácido sulfúrico livre de nitrogênio e água (1:30). Agitar, centrifugar durante cinco minutos, decantar o líquido sobrenadante e inverter o tubo, possibilitando que o seu conteúdo escorra sobre papel de filtro. Determinar o teor de nitrogênio no resíduo após mineralização e calcular o teor de proteínas, multiplicando a quantidade de nitrogênio por 6,25. O teor total de proteínas é, no mínimo, 50 g/L.

ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

O plasma congelado deve ser armazenado e transportado em condições desenvolvidas para manter a temperatura a -20 °C ou inferior; por razões acidentais, a temperatura de armazenamento pode subir acima de -20 °C em uma ou mais ocasiões durante o armazenamento e transporte, todavia, o plasma é aceitável para fracionamento se todas as condições abaixo forem preenchidas:

- o período de tempo total durante o qual a temperatura exceder a -20 °C deve ser, no máximo, 72 horas;
- a temperatura não deve exceder -15 °C em mais de uma ocasião;
- em nenhuma ocasião a temperatura pode exceder -5 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve possibilitar que cada unidade individual seja rastreável ao seu doador específico.

SOLUÇÃO DE ALBUMINA HUMANA
Albumini humani solutio

Solução de albumina humana é uma solução proteica, estéril e apirogênica obtida do plasma humano que está de acordo com as exigências da monografia *Plasma humano para fracionamento*.

A obtenção da albumina é realizada sob condições controladas particularmente no que tange ao pH, à força iônica e à temperatura, de modo que a concentração em albumina no produto final seja, no mínimo, 96% do teor total de proteínas.

A solução de albumina humana é preparada como uma solução concentrada contendo 150 g/L a 250 g/L de proteína total ou como uma solução isotônica contendo 35 g/L a 50 g/L de proteína total. Pode ser acrescentado contra os efeitos do calor um estabilizador como o caprilato de sódio (octanoato de sódio) ou *N*-acetiltriptofano ou uma combinação desses dois, a uma concentração adequada. Se forem acrescentadas substâncias para inativação viral na etapa de produção, um procedimento de purificação deve ser validado de modo a demonstrar que as concentrações dessas substâncias foram reduzidas a um nível aceitável, e que tais resíduos não comprometem a segurança da preparação.

Nenhum conservante antimicrobiano é adicionado em qualquer fase da preparação. A solução final é submetida a uma filtração esterilizante e é distribuída assepticamente em recipientes estéreis que são, então, fechados de modo a evitar a contaminação. A solução no seu recipiente final é aquecida a (60,0 ± 1,0) °C e mantida a essa temperatura por tempo não inferior a 10 horas. Os recipientes são então incubados à temperatura entre 30 °C e 32 °C durante pelo menos 14 dias ou entre 20 °C e 25 °C durante pelo menos quatro semanas e analisados visualmente para evidenciar uma possível contaminação microbiana.

IDENTIFICAÇÃO

A. Fazer ensaios de precipitação utilizando soros antialbumina de diferentes espécies. Recomenda-se que o ensaio seja efetuado com soros específicos para albumina humana de cada espécie de animal doméstico habitualmente utilizado no país para a preparação de produtos de origem biológica. A solução contém proteínas humanas e dá resultados negativos com os soros antialbumina de outras espécies.

B. Fazer um ensaio utilizando um dos *Métodos imunoquímicos* **(5.6)**, segundo técnica apropriada. Com o auxílio de um soro humano normal, comparar um soro normal com a amostra, após diluição prévia de ambos, de modo a conterem 10 g/L de proteínas. O componente principal da amostra corresponde ao componente principal do soro humano normal, podendo existir outras proteínas plasmáticas em pequenas quantidades.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Líquido límpido, ligeiramente viscoso, geralmente incolor, amarelo acastanhado ou esverdeado.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

pH (5.2.19). 6,7 a 7,3. Diluir a preparação a ser examinada com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) para obter uma solução contendo 10 g/L de proteína.

Composição de proteínas. Proceder conforme descrito em *Eletroforese* **(5.2.22)**, utilizando, como suporte, tiras de gel de acetato de celulose ou gel de agarose e, como solução de eletrólito, o tampão de barbital pH 8,6.

Nota: *se a tira de acetato de celulose for a escolhida para a corrida, o método descrito abaixo pode ser utilizado. Se géis de agarose são utilizados, é porque eles fazem parte de um sistema automatizado de eletroforese e as instruções do fabricante deverão ser seguidas em seu lugar.*

Solução amostra: diluir a amostra em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) de modo a obter uma concentração de 20 g/L em proteínas.

Solução padrão: diluir um padrão de albumina humana para eletroforese com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até obter uma concentração de 20 g/L em proteínas.

Aplicar, em uma tira, 2,5 µL da *Solução amostra* em traços de 10 mm, ou depositar 0,25 µL por milímetro se for utilizada uma tira mais estreita. Aplicar nas mesmas condições um volume igual da *Solução padrão* em uma outra tira. Aplicar um campo elétrico apropriado de modo que o composto que se desloca mais rapidamente migre pelo menos 30 mm. Tratar as tiras com negro de amido 10B SR durante cinco minutos e em seguida com uma mistura de 10 volumes de ácido acético glacial e 90 volumes de álcool metílico durante o tempo estritamente necessário para obter a descoloração do suporte. Provocar a transparência do suporte com uma mistura de 19 volumes de ácido acético glacial e 81 volumes de álcool metílico. Determinar a absorvância das bandas em 600 nm com auxílio de um aparelho que, nesse comprimento de onda, dê uma resposta linear no intervalo de medida. Realizar três determinações sobre cada tira e calcular a média das leituras para cada tira. No eletroforetograma da solução amostra, 5% das proteínas, quando muito, podem ter uma mobilidade diferente da banda principal. O ensaio só é válido se, no eletroforetograma obtido com a solução de referência, a proporção de proteínas contidas na banda principal estiver compreendida entre os limites estabelecidos pelo fabricante que acompanha a preparação de referência.

Distribuição do tamanho molecular. 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 600 mm de comprimento e 7,5 mm de diâmetro interno ou 300 mm de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel hidrofílica (adequada ao fracionamento de proteínas globulares com relação massa moleculares na faixa de 10 000 a 500 000); fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: solução contendo 4,873 g de fosfato de sódio dibásico di-hidratado, 1,741 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado, 11,688 g de cloreto de sódio e 50 mg de azida sódica, por litro de água ultrapurificada.

Solução amostra: diluir a amostra em uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração apropriada ao sistema cromatográfico utilizado. Uma concentração compreendida entre 4 g/L e 12 g/L e a injeção de 50 µg a 600 µg de proteínas são geralmente adequadas.

O tempo de retenção será definido pelo equipamento e o tamanho da coluna utilizada, devendo ser desconsiderado o pico de estabilização. O pico produzido pela albumina deve ser simétrico e ser igual ou superior a 95% da área total do cromatograma. Após um breve espaço vazio, deverão surgir os picos produzidos pela presença de polímeros e agregados. A área deste pico dividida por dois deve ser, no máximo, 5% da área total do cromatograma.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Alumínio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica* **(5.2.13.1)**. Empregar as seguintes condições: utilizar um forno de grafite como gerador de átomos, chama entre leituras, comprimento de onda de 309,3 nm ou outro adequado, largura da fenda de 0,5 nm, tubo piroliticamente revestido, com plataforma integrada e prioridade de correção desligado. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Nota: *utilizar recipientes de matéria plástica para a preparação das soluções e equipamentos plásticos, sempre que possível. Lavar a aparelhagem com ácido nítrico a 200 g/L antes da utilização.*

Solução amostra: utilizar a amostra a ser analisada, diluída se necessário.

Solução de validação: utilizar um padrão internacional de albumina para validação do ensaio de alumínio.

Soluções de referência: preparar pelo menos três soluções de referência em uma escala que mede a concentração de alumínio esperada na preparação a ser examinada, por exemplo, diluindo a *Solução padrão de alumínio (10 ppm de alumínio Al)* com solução de octoxinol 10 a 1,0 g/L.

Solução de monitoramento: adicionar *Solução padrão de alumínio (10 ppm alumínio Al)* ou um material de referência certificado para a adequada solução em uma quantidade suficiente para aumentar a concentração de alumínio para 20 µg/L.

Solução branco: solução de octoxinol 10 a 1,0 g/L.

As condições de funcionamento encontradas na **Tabela 1** são citadas como um exemplo de condições adequadas encontradas para determinado aparelho e podem ser modificadas para obter melhores resultados.

Tabela 1 – **Condições adequadas de funcionamento encontradas, citadas como exemplo.**

Passo	***Temperatura final (°C)***	***Tempo de deslocamento (s)***	***Tempo decorrido (s)***	***Gás***
1	120	10	80	Argônio
2	200	5	20	Argônio
3	650	5	10	Argônio
4	1300	5	10	Argônio
5	1300	1	10	Nenhum gás
6	2500	0,7	4	Nenhum gás
7	2600	0,5	3	Argônio
8	20	12,9	3	Nenhum gás

Procedimento: injetar três vezes a *Solução branco*, as *Soluções de referência*, a *Solução amostra* e a *Solução de monitoramento*. A recuperação do alumínio adicionado na preparação da *Solução de monitoramento* está dentro do intervalo de 80% a 120%. Determinar as absorvâncias. Construir uma curva analítica a partir da média das leituras obtidas com as *Soluções de referência* e determinar o teor de alumínio na preparação a ser analisada através da curva analítica. No máximo 200 µg/L.

Ativador da pré-calicreína. Proceder conforme descrito em *Determinação do título do ativador da pré-calicreína* **(5.5.1.11)**. A amostra contém, no máximo, 35 UI de ativador da pré-calicreína por mililitro.

Hemoglobina. Diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) até uma concentração de 10 g/L em proteínas. Determinar a absorvância **(5.2.14)** em 403 nm, utilizando água como branco. A absorvância é, no máximo, 0,15.

Potássio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Determinar a intensidade emitida em 766,5 nm. A amostra contém, no máximo, 0,05 milimol de K^{+1} por grama de proteínas.

Sódio. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica* **(5.2.13.2)**. Determinar a intensidade emitida em 589 nm. A amostra contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 105% do teor de sódio indicado no rótulo e, no máximo, 160 milimol de Na^{+1} por litro.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste.

Nota: *no caso de uma solução contendo 35 g/L a 50 g/L de proteínas, injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da preparação a ser examinada. No caso de uma solução contendo 150 g/L a 250 g/L de proteínas, injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 5 mL da preparação a ser examinada.*

DOSEAMENTO

Proteínas totais

Diluir a preparação com uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) para obter uma solução que se espera conter aproximadamente 15 mg de proteína em 2 mL. Em um tubo de centrifugação de fundo arredondado introduzir 2 mL dessa solução. Adicionar 2 mL de solução de molibdato de sódio a 75 g/L e 2 mL de uma mistura de ácido sulfúrico livre de nitrogênio e água (1:30). Agitar, centrifugar durante cinco minutos, decantar o líquido sobrenadante e inverter o tubo, permitindo que o seu conteúdo escorra sobre papel de filtro. Determinar o teor de nitrogênio presente no resíduo após mineralização de acordo com *Determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl* **(5.3.3.2)** e calcular o teor de proteínas multiplicando a quantidade de nitrogênio por 6,25. A preparação contém, no mínimo, 96% e, no máximo, 105% da quantidade de proteína declarada no rótulo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. O rótulo deve conter o nome da preparação, volume da preparação, conteúdo em proteínas expresso em gramas por litro, conteúdo de sódio expresso em milimol por litro, nome e concentração de qualquer substância adicionada à preparação (exemplo: estabilizante) e que o produto não deverá ser usado se houver turvação ou depósito.

FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Correlatos

Brasília
2019

CORRELATOS

ALGODÃO PURIFICADO E ESTERILIZADO	CR001-00
ATADURA DE GAZE	CR002-00
ESPARADRAPO	CR003-00
FITA ADESIVA	CR004-00
GAZE DE PETROLATO	CR005-00
SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS (CATEGUTE)	CR006-00
SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS SINTÉTICAS	CR007-00
SUTURAS CIRÚRGICAS NÃO ABSORVÍVEIS	CR008-00
TECIDO DE GAZE HIDRÓFILA PURIFICADA	CR009-00

ALGODÃO PURIFICADO E ESTERILIZADO

Algodão hidrófilo. Algodão absorvente.

O algodão purificado é constituído por pelos de diversas sementes cultivadas do gênero *Gossypium* (Malvaceae), alvejados, bem cardados e isentos de matérias gordurosas, resinosas e outras impurezas capazes de absorver água.

O algodão purificado, quando impregnado de substâncias medicamentosas, deve apresentar concentração uniformemente distribuída. Não deve conter substâncias ou concentrações capazes de provocar acidentes tóxicos ou reacionais.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto. Pelos finos e de cor branca, suave ao tato e de consistência frouxa, sem grumos e sem quaisquer impurezas; o algodão purificado é inodoro e insípido. Apresenta, ao exame microscópico, somente fibras finas, ocas, achatadas, retorcidas, estriadas, ligeiramente espessadas nas bordas.

Comprimento da fibra. Determinar o comprimento da fibra depois de colocar o algodão, livre (isento) de envoltórios, durante quatro horas em atmosfera (65 ± 2)% de umidade relativa, na temperatura de (21 ± 1) °C; no mínimo 60%, em peso, das fibras, devem medir 12,5 mm ou mais, sendo permitido até 10% em peso, de fibras medindo 6 mm ou menos.

Poder absorvente. Proceder conforme indicado na determinação do poder absorvente do algodão, depois de colocar o algodão, durante quatro horas, nas condições atmosféricas acima indicadas; a absorção deverá ser completa em 10 segundos e o algodão deverá reter, no mínimo, 24 vezes seu peso de água.

Solubilidade. É insolúvel nos solventes comuns e solúvel no sulfato cúprico amoniacal SR.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Colocar cerca de 10 g em um frasco de precipitação contendo 100 mL de água destilada recentemente fervida e resfriada sem agitação. Comprimir o algodão com um bastão de vidro, espremer e transferir alíquotas de 25 mL para duas cápsulas de porcelana. Adicionar a uma das cápsulas uma gota de alaranjado de metila SI e, à outra, três gotas de fenolftaleína SI; não deve produzir-se coloração rósea ou vermelha.

Perda por dessecação (5.2.9). O algodão purificado, dessecado a 100 °C, não deve perder mais que 8% de seu peso.

Determinação de cinzas sulfatadas (5.2.10). Colocar cerca de 5 g, pesados com exatidão, em uma cápsula tarada, e umedecer com ácido sulfúrico diluído. Aquecer, cautelosamente, até o enegrecimento e a seguir aumentar o calor até incineração completa; o resíduo não deve exceder 0,2%.

Substâncias corantes. Colocar 10 g em um percolador de diâmetro estreito e proceder à sua extração, lentamente com álcool etílico, até que o percolato atinja 50 mL; observando sobre fundo

branco, em uma coluna de 20 cm de altura, o líquido poderá apresentar leve coloração amarelada, porém, nunca verde ou azul.

Substâncias gordurosas. Colocar cerca de 10 g, pesados com exatidão, em um extrator de Soxhlet e proceder à sua extração com éter etílico, regulando o aquecimento de modo a obter, no mínimo, quatro sifonagens por hora. Continuar a extração durante cinco horas. O extrato etéreo não deve apresentar vestígios de coloração azul, verde ou acastanhada. Evaporar o extrato até secura, aquecer a 105 °C durante uma hora, resfriar em um dessecador e pesar; o resíduo não deve exceder a 0,7%.

Substâncias hidrossolúveis. Colocar cerca de 10 g, pesados com exatidão, em um frasco de precipitação com 1000 mL de água destilada e ferver brandamente durante 30 minutos, adicionando água destilada, quando necessário, para manter o volume aproximadamente constante. Transferir o conteúdo para outro recipiente, retirando o excesso de água retida pelo algodão, comprimindo com um bastão de vidro. Lavar o algodão duas vezes, com porções de 250 mL de água destilada fervente, espremendo após cada lavagem. Filtrar os líquidos da extração e de lavagem, lavar o filtro com água quente e evaporar o filtrado até cerca de 50 mL. Transferir o concentrado para uma cápsula de porcelana, previamente tarada, lavar o recipiente que o conteve com água destilada e reunir nessa cápsula os líquidos de lavagem. Evaporar até secura; o resíduo dessecado a 105 °C, até peso constante, não deve ser superior a 0,25%.

Outras substâncias estranhas. Porções de algodão hidrófilo, retiradas da embalagem original, não devem apresentar manchas de óleo, partículas metálicas ou quaisquer outras substâncias estranhas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). O algodão hidrófilo deve ser esterilizado nas embalagens apresentadas ao consumo. Quando expressamente declarado estéril ou esterilizado, deve satisfazer às exigências especificadas nas provas de esterilidade para sólidos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em rolos de peso não superior a 500 g, em camada contínua, em papel apropriado, cuja largura e comprimento possibilitem serem dobrados, no mínimo, 25 mm sobre as margens da camada de algodão. Os rolos devem receber um segundo envoltório que ofereça uma proteção completa contra poeira. O algodão purificado, quando declarado estéril ou esterilizado, deverá ser acondicionado de modo que sua esterilidade seja protegida contra uma contaminação posterior.

Poderá, também, ser acondicionado de outra forma e em outros tipos de embalagem, desde que sejam preservadas as condições de esterilidade exigidas para o produto.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve conter o nome do fabricante, o peso líquido e, tratando-se de algodão impregnado de substâncias medicamentosas, a fórmula empregada.

CATEGORIA

Adjuvante de uso em unidades de saúde em geral.

ATADURA DE GAZE

A atadura de gaze é constituída por faixa contínua de gaze purificada, do tipo I, firmemente enrolada, de largura e comprimento variáveis, isenta de fiapos e enovelamentos.

A atadura de gaze, desenrolada previamente, deve satisfazer a todas as exigências estabelecidas para o tecido de gaze hidrófila purificada, determinadas de acordo com as respectivas técnicas e as especificações a seguir.

CARACTERÍSTICAS

Comprimento. Determinar medindo ao longo da linha mediana da atadura, desenrolada e alisada sem tração; o comprimento deverá ser no mínimo 98% do indicado na rotulagem.

Largura. Medir a largura em três pontos uniformemente espalhados ao longo da atadura aberta. A média das três medidas deve apresentar variação dimensional de, no máximo, 2% em relação ao declarado na rotulagem.

Número de fios. Determinar o número de fios da urdidura e da trama em cinco áreas de 1 cm × 1 cm, na linha central da atadura, em pontos de intervalos regulares, pelo menos a 30 cm da extremidade e calcular o número de fios em uma área de 5 cm × 5 cm.

Peso. Determinar o peso de todo o rolo da atadura e, utilizando os resultados das medidas anteriores, calcular o peso por metro quadrado.

Poder absorvente. Sustentar a atadura, devidamente desenrolada horizontalmente, quase em contato com uma superfície de água destilada e deixar cair, delicadamente, sobre o líquido; a atadura deve submergir completamente no espaço de tempo de 30 segundos.

Substâncias medicamentosas ou adesivas. A atadura de gaze, quando impregnada de substâncias medicamentosas ou misturas adesivas deve apresentar concentração uniforme. Não deve conter substâncias em concentrações capazes de provocar acidentes tóxicos ou reacionais.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Aplicável quando a atadura é declarada estéril. Cumpre o teste.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ESPARADRAPO

Consiste em tecido de diversas origens uniformemente revestido em uma das faces, por uma camada adesiva sensível à pressão.

O esparadrapo tem a superfície adesiva plana, uniforme e isenta de grumos; apresenta reação neutra e é isento de substâncias tóxicas ou irritantes. O lado oposto ao da mistura adesiva pode ser revestido por uma camada fina de substâncias impermeáveis à água. Em geral é apresentado enrolado em faixas contínuas de diversas dimensões. O esparadrapo deve estar isento de impurezas e contaminação.

CARACTERÍSTICAS

Dimensão. Determinar o comprimento do esparadrapo. O resultado obtido não deve ser inferior a 98% do comprimento inscrito na rotulagem. Determinar a largura do esparadrapo em cinco pontos diferentes ao longo de seu comprimento. A média dos resultados não deve apresentar diferença superior 1,6 mm da largura inscrita na rotulagem.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração da fita após desenrolar e condicionar durante um período mínimo de quatro horas em atmosfera padrão de (65 ± 2)% de umidade relativa, a (21 ± 1,1) °C, usando um dispositivo tipo pêndulo. Prosseguir conforme descrito em *Resistência à tração.* A média com três determinações em tiras de 2,5 cm de largura não deve ser inferior a 20 kg.

Adesão à superfície. A partir da amostra fabricada em tecido, cortar uma faixa de 2,54 cm de largura e, aproximadamente, 15 cm de comprimento. A uma das extremidades da fita, de superfície igual a 12,90 cm^2, 2,54 cm de largura por 5,08 cm de comprimento, aplicar pressão equivalente a 850 g contra uma superfície limpa de vidro, plástico ou aço inoxidável. Exercer a pressão com auxílio de um rolo de borracha, por duas vezes consecutivas a uma velocidade de 30 cm por minuto. Ajustar a temperatura da superfície e da fita em 37 °C e conduzir o teste imediatamente conforme descrito em *Resistência à tração* **(5.7.1)**. Usar um dispositivo tipo pêndulo, sendo a ruptura efetuada paralelamente ao urdume e à superfície. O valor médio de pelo menos 10 testes deverá ser, no mínimo, 18 kg.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Aplicável quando o esparadrapo é declarado estéril. Cumpre o teste.

EMBALAGEM E ACONDICIONAMENTO

Em embalagens bem fechadas, protegidas da luz e calor excessivo.

O esparadrapo, quando declarado estéril ou esterilizado, deverá ser acondicionado de modo que sua esterilidade seja mantida contra contaminação posterior.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

FITA ADESIVA

Consiste em tecido e/ou filme uniformemente revestido em uma das faces por uma camada adesiva sensível à pressão.

CARACTERÍSTICAS

Dimensões. Determinar o comprimento da fita adesiva. No mínimo, 98,0% do valor declarado. Determinar a largura em cinco pontos uniformemente espaçados ao longo da linha central da fita e calcular a média. No mínimo, 95,0% do valor declarado.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração da fita após desenrolar e condicionar durante um período mínimo de quatro horas em atmosfera padrão de (65 ± 2)% de umidade relativa, a (21 ± 1,1) °C, utilizando um dispositivo tipo pêndulo. Prosseguir conforme descrito em *Resistência à tração* **(5.7.1)**. A fita fabricada a partir de tecido deve apresentar resistência à tração de, no mínimo, 20,41 kg por 2,54 cm de largura. A fita fabricada a partir de filme polimérico deve apresentar resistência à tração de, no mínimo, 3 kg por 2,54cm de largura.

Adesão à superfície. A partir da amostra fabricada em tecido, cortar uma faixa de 2,54 cm de largura e aproximadamente 15 cm de comprimento. A uma das extremidades da fita, de superfície igual a 12,90 cm^2, 2,54 cm de largura por 5,08 cm de comprimento, aplicar pressão equivalente a 850 g contra uma superfície limpa de vidro, plástico ou aço inoxidável. Exercer a pressão com auxílio de um rolo de borracha, por duas vezes consecutivas a uma velocidade de 30 cm por minuto. Ajustar a temperatura da superfície e da fita em 37 °C e conduzir o teste imediatamente conforme descrito em *Resistência à tração* **(5.7.1)**. Utilizar um dispositivo tipo pêndulo, sendo a ruptura efetuada paralelamente ao urdume e à superfície. O valor médio de pelo menos 10 testes deve ser, no mínimo, 18 kg.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Aplicável quando a fita é declarada estéril.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em embalagens bem fechadas, protegidas da luz e do calor excessivo.

A fita adesiva, quando declarada estéril ou esterilizada, deverá ser acondicionada de modo que sua esterilidade seja mantida contra contaminação posterior.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

GAZE DE PETROLATO

A gaze de petrolato é a gaze hidrófila purificada saturada com petrolato branco. É estéril e pode ser preparada, sob condições assépticas, na proporção de 60 g de petrolato para cada 20 g de gaze, por adição de petrolato branco derretido à gaze hidrófila purificada seca e previamente cortada no tamanho final. O peso do petrolato na gaze é, no mínimo, 70% e, no máximo, 80% em relação ao peso total da gaze de petrolato.

O petrolato recuperado por drenagem em *Doseamento* apresenta as mesmas características e cumpre os testes de *Descrição* e *Ensaios de pureza* descritos na monografia de *Petrolato branco.*

CARACTERÍSTICAS

A gaze condicionada obtida em *Doseamento* cumpre os testes de *Contagem dos fios*, *Comprimento*, *Largura* e *Gramatura* descritos na monografia de *Tecido de gaze hidrófila purificada.*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Pesar, no mínimo, 20 unidades da amostra e transferir, separadamente, para funil de vidro aquecido, mantendo a temperatura em aproximadamente 75 °C. Deixar que o petrolato derreta e drene através do funil. A drenagem pode ser facilitada pressionando a gaze com um bastão de vidro ou uma espátula de porcelana. Lavar a gaze sobre o funil ou uma espátula de porcelana. Lavar a gaze sobre o funil com porções sucessivas de 1,1,1-tricloroetano quente até que ela fique isenta de petrolato. Deixar o solvente residual evaporar espontaneamente. Manter a gaze em atmosfera padrão de (65 ± 2)% de umidade relativa e (21 ± 1,1) °C por, no mínimo, quatro horas e pesar. A diferença entre as duas pesagens representa o peso de petrolato.

EMBALAGEM E ACONDICIONAMENTO

Cada unidade de gaze de petrolato é embalada individualmente de forma a manter a esterilidade até que a embalagem seja aberta para uso.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS (CATEGUTE)

DESCRIÇÃO

O categute é constituído por fitas de colágeno proveniente do intestino de animais herbívoros sadios, selecionadas, purificadas, torcidas, secadas, polidas e esterilizadas. O categute pode ser submetido a tratamentos químicos tais como sais de cromo para prolongar sua resistência à absorção, sendo por esta razão classificado em simples ou não tratado e cromado ou tratado.

O comprimento, diâmetro e a resistência à tração do categute deverão estar de acordo com os limites descritos nesta monografia.

CARACTERÍSTICAS

Nota: *os quatro testes a seguir devem ser executados imediatamente após a remoção do categute cirúrgico do líquido conservante, sem submeter à secagem prévia.*

Comprimento. Deve ser determinado sem submeter o categute a estiramento. O comprimento de cada sutura deve ser, no mínimo, 90% do comprimento descrito no rótulo.

Diâmetro (5.7.2). Determinar o diâmetro de dez suturas conforme descrito em *Diâmetro de suturas*. A média, e, no mínimo, vinte de trinta determinações em amostragem de dez suturas, deve estar dentro dos limites de diâmetro descritos na **Tabela 1**, para o respectivo número cirúrgico. Nenhuma das medidas deve ser menor que o valor médio da faixa do número cirúrgico, imediatamente inferior, ou maior que o valor médio da faixa para o número cirúrgico, imediatamente superior.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração de dez suturas conforme descrito em *Resistência à tração*. A resistência mínima à tração correspondente a cada número cirúrgico é representada pela média dos resultados obtidos nas dez suturas analisadas, descritas na **Tabela 1**. Se mais do que um fio estiver fora da especificação individual, repetir o ensaio com, no mínimo, 20 fios adicionais. Os requisitos do ensaio são preenchidos se nenhum dos fios adicionais estiver abaixo do limite individual e se a força média de todos os fios ensaiados não estiver abaixo do valor encontrado na respectiva tabela.

Tabela 1 – Categute cirúrgico estéril: diâmetro e resistência à tração sobre-nó.

Número		***Diâmetro***		***Resistência à tração***			
				Média (Mínimo)		***Valor individual (Mínimo)***	
Cirúrgico	***Métrico***	***Mínimo mm***	***Máximo mm***	***kgf***	***N***	***kgf***	***N***
9-0	0,4	0,040	0,049	-	-	-	-
8-0	0,5	0,050	0,069	0,045	0,44	0,025	0,24
7-0	0,7	0,070	0,099	0,07	0,69	0,055	0,54
6-0	1	0,10	0,149	0,18	1,77	0,10	0,98
5-0	1,5	0,15	0,199	0,38	3,73	0,20	1,96
4-0	2	0,20	0,249	0,77	7,55	0,40	3,92
3-0	3	0,30	0,339	1,25	12,26	0,68	6,67
2-0	3,5	0,35	0,399	2,00	19,62	1,04	10,2

0	4	0,40	0,499	2,77	27,17	1,45	14,2
1	5	0,50	0,599	3,80	37,28	1,95	19,1
2	6	0,60	0,699	4,51	44,24	2,40	23,5
3	7	0,70	0,799	5,90	57,88	2,99	29,3
4	8	0,80	0,899	7,00	68,67	3,49	34,2

Resistência ao encastoamento da agulha (5.7.3). As suturas nas quais são fixadas agulhas devem atender aos requisitos descritos em *Resistência ao encastoamento da agulha*.

Esterilidade (5.5.3.2.1). O categute cirúrgico deve satisfazer às exigências descritas no *Teste de esterilidade*.

Compostos solúveis de cromo. Pesar uma quantidade de sutura equivalente a, no mínimo, 250 mg e transferir para um erlenmeyer contendo 1 mL de água para cada 10 mg de amostra. Fechar o erlenmeyer e deixar em repouso a (37 ± 0,5) °C durante 24 horas. Após esse tempo, resfriar e decantar ou filtrar o líquido e pipetar 5 mL para um tubo de ensaio. Em um tubo similar, pipetar 5 mL de uma solução padrão de dicromato de potássio de concentração igual a 2,83 μg por mL. Adicionar a ambos os tubos 2 mL de uma solução de difenilcarbazida a 1% (p/v) em álcool etílico e 2 mL de ácido sulfúrico 2 *M*. Qualquer cor que se desenvolva na solução teste não deve ser mais intensa que a da solução padrão (0,0001% de Cr).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

O categute cirúrgico deve ser acondicionado em embalagem adequada, de modo a manter sua condição de esterilidade até a sua abertura.

SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS SINTÉTICAS

DESCRIÇÃO

As suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas são formadas por um fio esterilizado, mono ou multifilamentar, preparado a partir de polímeros sintéticos. O comprimento, diâmetro e a resistência à tração das suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas deverão estar de acordo com os limites descritos nesta monografia.

CARACTERÍSTICAS

Nota: *os quatro testes a seguir devem ser executados imediatamente após a remoção da sutura de sua embalagem.*

Comprimento. Deve ser determinado sem submeter a sutura à estiramento. O comprimento de cada sutura deve ser, no mínimo, 95% do comprimento descrito no rótulo.

Diâmetro (5.7.2). Determinar o diâmetro de dez suturas conforme instruções em *Diâmetro de suturas*. A média deve estar dentro dos limites de diâmetro descritos na **Tabela 1**, para o respectivo número cirúrgico. Nenhuma das medidas deve ser menor que o valor médio da faixa do número cirúrgico imediatamente inferior ou maior que o valor médio da faixa para o número cirúrgico imediatamente superior.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração de dez suturas conforme descrito em *Resistência à tração*. A resistência mínima à tração correspondente a cada número cirúrgico é representada pela média dos resultados obtidos nas dez suturas analisadas e deve atender aos requisitos descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas esterilizadas: diâmetro e resistência à tração sobre-nó.

Número		***Diâmetro***		***Resistência à tração***	
				Média (Mínimo)	
Cirúrgico	***Métrico***	***Mínimo mm***	***Máximo mm***	***kgf***	***N***
12-0	0,01	0,001	0,009	-	-
11-0	0,1	0,010	0,019	-	-
10-0	0,2	0,020	0,029	0,025 (1)	0,24 (1)
9-0	0,3	0,030	0,039	0,050 (1)	0,49 (1)
8-0	0,4	0,040	0,049	0,07	0,69
7-0	0,5	0,050	0,069	0,14	1,37
6-0	0,7	0,070	0,099	0,25	2,45
5-0	1	0,10	0,149	0,68	6,67
4-0	1,5	0,15	0,199	0,95	9,32
3-0	2	0,20	0,249	1,77	17,4
2-0	3	0,30	0,339	2,68	26,3
0	3,5	0,35	0,399	3,90	38,2
1	4	0,40	0,499	5,08	49,8
2	5	0,50	0,599	6,35	62,3
3 e 4	6	0,60	0,699	7,29	71,5

5	7	0,70	0,799	-	-

(1) Valores de resistência à força de tração direta (exceções).

Resistência ao encastoamento da agulha (5.7.3). As suturas nas quais são fixadas agulhas devem atender aos requisitos descritos em *Resistência ao encastoamento da agulha*.

Esterilidade (5.5.3.2.1). As suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas devem satisfazer às exigências descritas no *Teste de esterilidade*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

As suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas devem ser acondicionadas em embalagem adequada, de modo a manter sua condição de esterilidade até a sua abertura.

SUTURAS CIRÚRGICAS NÃO ABSORVÍVEIS

DESCRIÇÃO

As suturas cirúrgicas não absorvíveis são fios esterilizados que, quando utilizados em um organismo vivo não são absorvidos pelo mesmo. Variam na origem, que pode ser animal, vegetal ou sintética. Podem ser monofilamentos cilíndricos ou multifilamentos. Estes consistem de fibras elementares que são reunidas por torção ou trançamento.

Podem ser tratados para se tornarem não capilares.

As suturas cirúrgicas não absorvíveis são classificadas em:

- Classe I – compostas por seda ou fibras sintéticas de monofilamento, de construção torcida ou trançada.

- Classe II – composta por fibras de algodão, linho ou sintéticas que possuam um revestimento formando uma película de espessura significante.

- Classe III – composta por fios metálicos mono ou multifilamentos.

O comprimento, diâmetro e resistência dos fios cirúrgicos não absorvíveis deverão estar de acordo com os limites descritos nesta monografia.

CARACTERÍSTICAS

Nota: *se a sutura estiver em uma embalagem com um líquido conservante, os quatro testes a seguir devem ser executados imediatamente após a remoção da sutura de sua embalagem.*

Comprimento. Deve ser determinado sem submeter a sutura à estiramento. O comprimento de cada fio deve ser, no mínimo, 95% do comprimento descrito no rótulo.

Diâmetro (5.7.2). Determinar o diâmetro de dez fios conforme descrito em *Diâmetro de suturas*. A média deve estar dentro dos limites de diâmetro descritos na **Tabela 1**, para o respectivo número cirúrgico. No caso de suturas trançadas ou torcidas, nenhuma das medidas deve ser menor que o valor médio da faixa do número cirúrgico imediatamente inferior ou maior que o valor médio da faixa para o número cirúrgico imediatamente superior.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração de dez fios conforme descrito em *Resistência à tração*. A resistência mínima à tração correspondente a cada número cirúrgico é representada pela média dos resultados obtidos nos dez fios analisados, e deve ser a descrita na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Suturas cirúrgicas não absorvíveis esterilizadas: diâmetro e resistência à tração sobre-nó.

Número		***Diâmetro mm***		***Resistência à tração (média - mínimo)***					
				Classe I(1)		***Classe II(2)***		***Classe III(3)***	
Cirúrgico	***Métrico***	***Mínimo***	***Máximo***	***kgf***	***N***	***kgf***	***N***	***kgf***	***N***
12-0	0,01	0,001	0,009	0,001(4)	0,01	-	-	0,002(4)	0,02(4)
11-0	0,1	0,010	0,019	0,006(4)	0,06(4)	0,005(4)	0,05(4)	0,02(4)	0,20(4)

10-0	0,2	0,020	0,029	0,019(4)	0,194(4)	0,014(4)	0,14(4)	0,06(4)	0,59(4)
9-0	0,3	0,030	0,039	0,043(4)	0,424(4)	0,029(4)	0,28(4)	0,07(4)	0,69(4)
8-0	0,4	0,040	0,049	0,06	0,59	0,040	0,39	0,11	1,08
7-0	0,5	0,050	0,069	0,11	1,08	0,06	0,59	0,16	1,57
6-0	0,7	0,070	0,099	0,20	1,96	0,11	1,08	0,27	2,65
5-0	1	0,100	0,149	0,40	3,92	0,23	2,26	0,54	5,30
4-0	1,5	0,150	0,199	0,60	5,88	0,46	4,51	0,82	8,04
3-0	2	0,200	0,249	0,96	9,41	0,66	6,47	1,36	13,3
2-0	3	0,300	0,339	1,44	14,1	1,02	10,0	1,80	17,6
0	3,5	0,350	0,399	2,16	21,2	1,45	14,2	3,40	33,3
1	4	0,400	0,499	2,72	26,67	1,81	17,8	4,76	46,7
2	5	0,500	0,599	3,52	34,5	2,54	24,9	5,90(4)	57,8(4)
3 e 4	6	0,600	0,699	4,88	47,8	3,68	36,1	9,11(4)	89,3(4)
5	7	0,700	0,799	6,16	60,4	-	-	11,4(4)	112(4)
6	8	0,800	0,899	7,28	71,4	-	-	13,6(4)	133(4)
7	9	0,900	0,999	9,04	88,6	-	-	15,9(4)	156(4)
8	10	1,000	1,099	-	-	-	-	18,2(4)	178(4)
9	11	1,100	1,199	-	-	-	-	20,5(4)	201(4)
10	12	1,200	1,299	-	-	-	-	22,8(4)	224(4)

(1) A classe I é formada por seda ou monofilamentos de fibras sintéticas (torcidas ou trançadas), onde o possível revestimento não afeta significativamente o diâmetro. Por exemplo: seda trançada, poliéster, polipropileno, poliamida, monofilamento de poliamida ou propileno.

(2) A classe II é formada por fios de algodão, de algodão misto, linho (com ou sem revestimento), com fibras sintéticas onde o revestimento afeta significativamente o diâmetro, porém não contribui significativamente na resistência à tração.

(3) A classe III é formada por fios metálicos.

(4) Exceções: valores de resistência à tração por tração direta.

Resistência ao encastoamento da agulha (5.7.3). As suturas nas quais são fixadas agulhas devem atender aos requisitos descritos em *Resistência ao encastoamento da agulha*.

Esterilidade (5.5.3.2.1). As suturas cirúrgicas não absorvíveis devem satisfazer às exigências descritas no *Teste de esterilidade*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

As suturas cirúrgicas não absorvíveis devem ser acondicionadas em embalagem adequada, de modo a manter sua condição de esterilidade até a sua abertura.

TECIDO DE GAZE HIDRÓFILA PURIFICADA

Tecido 100% de algodão, simples, de baixa densidade de fios por centímetro, tipo tela, alvejado (isento de amido, dextrina, corantes corretivos, azulantes ópticos, álcalis e ácidos), inodoro e insípido.

A gaze hidrófila purificada é um tecido branco de várias contagens de fios e pesos, em vários comprimentos e larguras. Na **Tabela 1** há designação, para cada tipo comercial, o número de fios e a respectiva gramatura.

Tabela 1 – Tipos comerciais de gazes com respectivos números de fios e gramaturas.

Tipo de gaze	*Número mínimo de fios de urdume por 10 cm*	*Número mínimo de fios de trama por 10 cm*	*Número mínimo de fios por 100 cm^2 de área*	*Gramatura (g/m^2)*	*Variação em porcentagem*
I	158	138	296	73,0	± 6
II	138	138	276	66,5	± 6
III	118	79	197	38,5	± 6
IV	89	69	158	31,0	± 6
V	79	59	138	26,8	± 6
VI	74	54	128	25,2	± 6
VII	74	34	108	21,3	± 6
VIII	69	29	98	19,3	± 6
IX	59	29	88	16,6	± 6

CARACTERÍSTICAS

Condicionar a amostra por, no mínimo, quatro horas em atmosfera padrão de umidade relativa de (65 ± 2)%, a (20 ± 2) °C, antes de realizar os testes de *Contagem de fios*, *Gramatura* e *Poder absorvente*. Remover a amostra de suas embalagens antes de submetê-la à atmosfera condicionante. Se a amostra estiver na forma de rolos, cortar a quantidade necessária para a realização dos testes, excluindo os primeiros e os últimos dois metros, quando a quantidade total de amostra disponível assim o permitir.

Contagem de fios. Coletar amostra com no mínimo 50 cm de comprimento e largura igual à do tecido. Colocar a amostra, sem rugas e sem tensão, sobre uma superfície plana. Começar a contar no espaço entre dois fios. Não efetuar a contagem na área das ourelas. Colocar a escala sobre a amostra e contar o número de fios compreendidos em 5 cm. Contar no sentido do urdume, ao longo da largura da amostra. A contagem deve ser realizada em cinco partes diferentes da amostra. Contar no sentido da trama, ao longo do comprimento da amostra. A contagem deve ser realizada em cinco partes diferentes da amostra. Dividir o número de fios de cada medida por 5 cm, para determinar o número de fios por centímetro.

Calcular a média aritmética das cinco contagens efetuadas em cada sentido. A média, multiplicada por 10, deve estar dentro do intervalo de variação da **Tabela 1**.

Comprimento. Desdobrar ou desenrolar a amostra, estender sem esticar e medir o comprimento ao longo da linha central, utilizando régua graduada. Deve apresentar no mínimo 98% do comprimento declarado.

Largura. Retirar amostra com no mínimo 50 cm de comprimento, na largura total do tecido e a um metro das pontas dos rolos. Medir a largura com o auxílio de régua graduada, em pelo menos três pontos, a intervalos iguais e não superiores a 10 cm, distribuídos ao longo da amostra. A média das três medidas não deve apresentar diferença superior a 1,6 mm da largura escrita no rótulo.

Gramatura. Cortar três corpos de prova da amostra com área igual a 100 cm^2. Pesar cada corpo de prova em balança com precisão de 0,001 g. Calcular a média das massas obtidas e multiplicar por 100, para expressar o resultado em gramas por metro quadrado. A gramatura cumpre a especificação indicada na **Tabela 1**.

Poder absorvente. Preencher com água à temperatura aproximada de 20 °C, um recipiente de 11 a 12 cm de diâmetro. Dobrar, com uma pinça, um quadrado da amostra com cerca de 1 g e alisar a superfície. Depositar cuidadosamente o quadrado da amostra sobre a superfície da água. Determinar com um cronômetro o tempo necessário para a submersão total da amostra. O tempo de imersão, expresso pela média dos tempos registrados no decurso de três ensaios, não deve exceder 10 segundos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias solúveis em água. Transferir, quantitativamente, cerca de 20 g da amostra para um béquer de 1000 mL contendo 500 mL de água purificada. Aquecer à ebulição, durante 15 minutos, adicionando água fervente para conservar o volume inicial. Filtrar a quente através de um funil, espremendo a amostra retida com um pistilo, de modo a retirar toda a água. Lavar com duas porções de 200 mL de água fervente, pressionando a gaze após cada lavagem. Coletar o filtrado em balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água. Transferir 400 mL do extrato para cápsula de porcelana previamente tarada e evaporar até resíduo em banho-maria.

Resíduo após dessecação: secar o resíduo obtido em *Substâncias solúveis em água* em estufa a 105 °C até peso constante. Calcular a porcentagem de resíduo em relação à massa de amostra inicial. Deve ser no máximo 0,25% do peso inicial.

Resíduo após incineração: incinerar o resíduo obtido em *Resíduo após dessecação*, em mufla a 600 °C até peso constante. Calcular a porcentagem de resíduo em relação à massa de amostra inicial. Deve ser no máximo 0,075% do peso inicial.

Acidez ou alcalinidade. Cortar a amostra de 10 g de tecido com tolerância de ± 0,1 g. Ferver, moderadamente, 250 mL de água purificada em um béquer. Imergir a amostra, cobrir o béquer com placa de Petri ou vidro de relógio e ferver por mais cinco minutos. Mantendo o béquer e o conteúdo cobertos, esfriar até a temperatura ambiente. Remover a amostra com pinça ou tenaz e espremer todo o excesso de líquido no béquer. Determinar o pH do extrato aquoso potenciometricamente **(5.2.19)**. O valor do pH deve situar-se entre 5,0 e 8,0.

Dextrina ou amido. Gotejar sobre a amostra duas a três gotas de iodo SR. A coloração da solução no tecido, após 30 segundos, permanece amarelada. Alteração para tons esverdeados indica resíduos de dextrina; coloração azul ou violeta indica a presença de amido.

Determinação de cinzas sulfatadas (5.2.10). Pesar, com exatidão, cerca de 5 g da amostra e transferir para cadinho previamente tarado. Umedecer com 0,5 mL de ácido sulfúrico *M* e calcinar, cuidadosamente, sob chama direta, até enegrecimento da amostra. Resfriar, adicionar ao resíduo três a cinco gotas de ácido sulfúrico *M* e aquecer lentamente até que não haja mais liberação de fumaça branca. Incinerar a 800 °C até peso constante. O resíduo deve ser, no máximo, 0,2% do peso inicial.

Substâncias gordurosas. Pesar, com exatidão, cerca de 10 g da amostra e adaptá-la ao extrator Soxhlet. Pesar um balão de fundo chato de 250 mL contendo pérolas de vidro ou pedaços de porcelana e adicionar 180 mL de éter etílico. Adaptar o balão ao extrator Soxhlet e à manta aquecedora com regulagem de temperatura e aquecer o conjunto por cinco horas, mantendo, no mínimo, quatro refluxos por hora (o extrato etéreo não deve apresentar vestígios de coloração azul, verde ou parda). Remover a manta aquecedora após o período de extração e deixar resfriar o conjunto, de modo que fiquem no balão alguns mililitros de éter etílico. Desconectar o extrator do balão e evaporar o éter, utilizando um fluxo leve de nitrogênio pelo interior do balão, com cuidado, sempre no interior da capela de exaustão. Secar o balão em estufa a 105 °C até peso constante. Deve ser no máximo 0,7%.

Corantes corretivos. Transferir 10 g da amostra para percolador. Proceder lentamente à extração com álcool etílico até a obtenção de 50 mL de extrato alcoólico. O percolato, observado sobre fundo branco, em coluna de 20 cm de altura, pode apresentar leve coloração amarela, mas não coloração verde ou azul.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Gaze declarada estéril cumpre o teste.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em embalagens bem fechadas. Gaze declarada estéril é embalada de modo a manter a esterilidade, até que seja aberta para o uso.

ROTULAGEM.

Observar a legislação vigente.

FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Radiofármacos

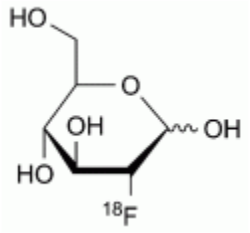
Brasília
2019

RADIOFÁRMACOS

FLUDESOXIGLICOSE (18 F), SOLUÇÃO INJETÁVEL	RF001-00
MEDRONATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL	RF002-00
PENTETATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL	RF003-00
PERTECNETATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL	RF004-00
SESTAMIBI (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL	RF005-00

FLUDESOXIGLICOSE (18 F), SOLUÇÃO INJETÁVEL

Fludeoxyglucosi (^{18}F) solutio iniectabilis



$C_6H_{11}{}^{18}FO_5$; 181,15
fludesoxiglicose (18 F); 04114
2-[^{18}F]fluoro-2-desoxi-D-glicopiranose (2-[^{18}F]fluoro-2-desoxi-D-glicose); 2-desoxi-2-[^{18}F]fluoro-D-glicose; FDG-^{18}F
[*105851-17-0*]

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da radioatividade de fludesoxiglicose (18 F), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril e incolor ou levemente amarelada de 2-desoxi-2-[^{18}F]fluoro-D-glicose. Pode conter 2-desoxi-2-[^{18}F]fluoro-D-manose. Pode conter agentes conservantes, estabilizantes ou tamponantes. O ^{18}F é um radionuclídeo emissor de pósitrons e possui meia-vida física média de 111 minutos. É comumente obtido por irradiação de ^{18}O com prótons em acelerador cíclotron e processado de forma a se obter ^{18}F livre de carreador.

IDENTIFICAÇÃO

A. *Identidade radionuclídica*: proceder como indicado em *Radiofármacos* **(8.3).** A meia-vida física, determinada usando-se um sistema detector adequado, está entre 105 e 115 minutos. No espectro de raios gama obtido no ensaio de *Pureza radionuclídica*, as emissões gama observadas devem corresponder ao pico de 0,511 MeV e, dependendo da geometria da medida, também ao pico soma de 1,022 MeV.

B. *Identidade radioquímica*: o valor de R_f do fludesoxiglicose (18 F) no cromatograma da *Solução amostra* corresponde ao do cromatograma da *Solução padrão*, conforme obtido no teste de *Pureza radioquímica*.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 7,5.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**.
Solução padrão: dissolver 10 mg de fludesoxiglicose SQR (2-desoxi-2-fluoro-D-glicose não radioativo; PM 182,15) em 100 mL de acetonitrila:água (95:5).

Solução amostra: solução injetável de fludesoxiglicose (18 F) a ser analisada.

Fase estacionária: placa cromatográfica de camada delgada de sílica gel ativada com dimensões adequadas.

Fase móvel: solução de acetonitrila e água (95:5).

Procedimento: aplicar uma alíquota da *Solução amostra* diluída para obter uma taxa de contagem adequada para o sistema de detecção de radioatividade empregado. Aplicar aproximadamente 10 µL da *Solução padrão* na mesma placa. Desenvolver o cromatograma até que a fase móvel tenha percorrido aproximadamente três quartos do comprimento da placa. Retirar a placa cromatográfica e deixar secar. Determinar a radioatividade ao longo da placa com um detector de radiação adequado.

Determinar a localização de fludesoxiglicose aspergindo a placa cromatográfica com uma solução de ácido sulfúrico *M*, seguido de aquecimento até o aparecimento da mancha. O valor de Rf da *Solução amostra* corresponde ao da *Solução padrão* (aproximadamente 0,4). No mínimo, 90% da atividade total corresponde à fludesoxiglicose (18 F).

Pureza química.

Nota: *os métodos e limites descritos nesta seção relacionam-se a impurezas potenciais associadas ao método de síntese empregado. Os testes específicos de pureza química descritos a seguir podem ser omitidos quando as substâncias não forem usadas ou não resultarem do processo de síntese.*

Limite de aminopoliéter. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**.

Solução amostra: solução de fludesoxiglicose (18 F) a ser analisada.

Solução padrão: pesar quantidade apropriada de aminopoliéter (4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabiciclo[8.8.8]hexacosano) SQR e dissolver em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) para obter solução a 50 µg/mL.

Fase estacionária: placa cromatográfica de camada delgada de sílica gel.

Fase móvel: solução de metanol:hidróxido de amônio 30% (9:1).

Procedimento: aplicar separadamente cerca de 2,5 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão* e desenvolver o cromatograma. Retirar e secar a placa à temperatura ambiente e proceder à revelação com vapor de iodo (em câmara contendo cristais de iodo).

O tamanho e a intensidade da mancha de aminopoliéter (4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabiciclo[8.8.8]hexacosano) SQR obtida a partir da *Solução amostra* não excedem aos da mancha obtida a partir da *Solução padrão*.

2-cloro-2-desoxi-D-glicose. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (**5.2.17.4**). Equipar o cromatógrafo a líquido com detector amperométrico pulsado e coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com resina aniônica fortemente básica (10 µm); fluxo da *Fase móvel* de aproximadamente 0,5 mL/minuto.

Fase móvel: preparar 1000 mL de solução de hidróxido de sódio 0,2 *M*, filtrar e degaseificar borbulhando com hélio.

Soluções de adequabilidade do sistema: pesar quantidades apropriadas de fludesoxiglicose SQR e de 2-cloro-2-desoxi-D-glicose SQR e dissolver na fase móvel para obter soluções a 1 mg/mL e 0,1 mg/mL, respectivamente.

Solução amostra: solução de fludesoxiglicose (18 F) a ser analisada.

Solução padrão: solução a 0,1 mg/mL de 2-cloro-2-desoxi-D-glicose SQR em água.
Adequabilidade do sistema: injetar separadamente no cromatógrafo a *Solução padrão* e a *Solução de adequabilidade do sistema* e registrar o cromatograma de acordo com o *Procedimento*. A resolução entre o fludesoxiglicose e o 2-cloro-2-desoxi-D-glicose é, no mínimo, 1,5 e o desvio padrão relativo para injeções repetidas é, no máximo, 5%.

Procedimento: injetar separadamente volumes iguais (aproximadamente 100 µL) da *Solução padrão* e da *Solução amostra* no cromatógrafo. Registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos principais.

Calcular a quantidade em mg de 2-cloro-2-desoxi-D-glicose, em cada mL da *Solução amostra* (C_a) por meio da fórmula:

$$C_a = C_p (r_a/r_p)$$

em que
C_p é a concentração, em mg/mL, do 2-cloro-2-desoxi-D-glicose na *Solução padrão*;
r_a e r_p são as áreas dos picos de 2-cloro-2-desoxi-D-glicose, obtidas a partir da *Solução amostra* e *Solução padrão*, respectivamente.

A quantidade de 2-cloro-2-desoxi-D-glicose da *Solução amostra* (C_a) é de, no máximo, 1 mg por dose.

Solventes residuais. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* (**5.2.17.5**). O cromatógrafo a gás é equipado com detector de ionização por chama, sistema injetor no modo *split*, na razão de 1:20 e coluna de sílica fundida revestida com polietilenoglicol de peso molecular de cerca de 15 000, com ligações cruzadas de, no mínimo, 0,50 µm de espessura de filme, de comprimento de 30 m e de diâmetro interno de 0,25 mm. O gás carreador é o hélio, com fluxo de 2 mL por minuto. Programar o cromatógrafo da seguinte forma: inicialmente, a temperatura é mantida a 40 °C por um minuto. Em seguida aumentar na razão de 40 °C por minuto até 100 °C e manter por um minuto. Manter as temperaturas do injetor e do detector a 250 °C e 300 °C, respectivamente.

Solução amostra: solução de fludesoxiglicose (18 F) a ser analisada.

Solução padrão: preparar solução aquosa contendo acetonitrila a 0,01% (p/v), etanol a 0,1% (p/v) e éter a 0,1% (p/v).

Adequabilidade do sistema: injetar volume de aproximadamente 1 µL da *Solução padrão* em triplicata e registrar a resposta de identificação dos picos. A resolução entre quaisquer dois componentes é, no mínimo, 1,0 e o desvio padrão relativo para as áreas de replicatas de injeção é, no máximo, 5%.

Procedimento: injetar separadamente volumes iguais (aproximadamente 1 µL) da *Solução amostra* e da *Solução padrão*. Registrar os cromatogramas e medir a área dos picos.

Calcular a concentração de solvente residual na *Solução amostra* da seguinte forma:

$$C_a = C_p (r_a/r_p)$$

em que:

C_a = concentração de solvente na *Solução amostra* (%);
C_p = concentração de solvente na *Solução padrão* (%);
r_a/r_p = área do pico da *Solução amostra*/área do pico da *Solução padrão*.

No máximo, 0,04% de acetonitrila, 0,5% de etanol e 0,5% de éter.

Pureza radionuclídica. Proceder como indicado em *Radiofármacos* **(9)**. Determinar por espectrometria de raios gama, utilizando um instrumento devidamente calibrado. No espectro de raios gama obtido, no mínimo 99,5% das emissões observadas devem corresponder ao pico principal de 0,511 MeV, 1,022 MeV ou a picos de espalhamento Compton do ^{18}F.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. A solução pode ser utilizada antes da conclusão do ensaio.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci) ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.

MEDRONATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL

Technetii (^{99m}Tc) medronati solutio iniectabilis

[99m Tc]$(CH_6O_8P_2)_n$
medronato de sódio (99m Tc); 09794
MDP-^{99m}Tc; metilenodifosfonato de sódio (99m Tc)
[*121524-79-6*]

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% de medronato de sódio (99m Tc), expresso em MBq/mL (mCi/mL), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril e incolor do complexo formado entre o tecnécio-99m, da solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc), e o medronato de sódio, em presença de um agente redutor. A atividade presente em outras formas químicas que não sejam o complexo não deve ultrapassar 10% da atividade total. Pode conter conservantes, antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes e soluções tampão adequadas.

IDENTIFICAÇÃO

A. O produto deve atender aos requisitos do teste de Identificação Radionuclídica e de Pureza Radionuclídica da monografia *Pertecnetato de sódio (99m Tc), solução injetável*.

B. Examinar o cromatograma obtido no ensaio de pureza radioquímica. A distribuição da atividade contribui para a identificação da preparação.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 8,0.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em papel* (**5.2.17.2**), do tipo ascendente.

Solução amostra: a solução injetável de medronato de sódio (99m Tc) a ser analisada.
A. *Fase estacionária*: utilizar uma tira de papel cromatográfico.
Fase móvel: solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).
Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que permita a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre e o medronato de sódio (99m Tc) migram com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O tecnécio-99m na forma coloidal fica retido no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).

B. *Fase estacionária*: utilizar uma tira de papel cromatográfico.
Fase móvel: acetona.
Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por

um período de tempo suficiente, que permita a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre migra com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O medronato de sódio (99m Tc) e o tecnécio-99m na forma coloidal ficam retidos no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).
O porcentual de atividade correspondente à soma dos porcentuais de atividade das impurezas nos cromatogramas obtidos nos testes A, tecnécio-99m na forma coloidal, e B, pertecnetato livre, não deve exceder 10,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

Distribuição biológica. Administrar por via intravenosa um volume máximo de 0,2 mL, equivalente a, no máximo, 0,05 mg de medronato de sódio, na veia caudal ou safena de três ratos (150-250 g). Medir a atividade da seringa antes e após a administração. Eutanasiar os animais uma hora após a injeção e remover cuidadosamente um fêmur, o fígado e os rins. Extirpar a cauda, se a veia caudal foi utilizada para a injeção. Determinar o porcentual de radioatividade em cada órgão segundo a expressão:

$$(A/B) \times 100$$

em que

A é a radioatividade do órgão e B é a radioatividade total, que equivale à diferença entre as duas medidas da seringa menos a atividade da cauda.

Deve ser encontrado, no mínimo, 1% de radioatividade no fêmur e, no máximo, 5% no fígado ou nos rins, em, no mínimo, dois dos três animais.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci) ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

ROTULAGEM

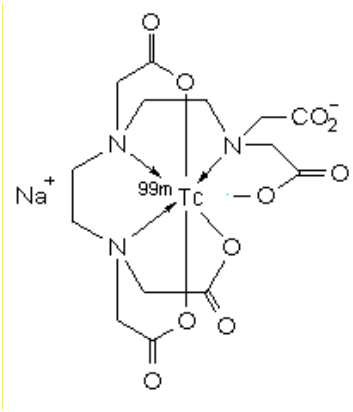
Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.

PENTETATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL

Technetii (^{99m}Tc) pentetatis solutio iniectabilis



$[^{99m}Tc]C_{14}H_{18}N_3NaO_{10}$; 510,2 g/mol
pentetato de sódio (99m Tc); 09748
[*N*, *N*-bis{2-[bis(carboxilmetil)amino]etil}glicinato(5-)][99mTc]tecnetato(1-) de sódio;
DTPA-99mTc
[*65454-61-7*]

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% de pentetato de sódio (99m Tc), expresso em MBq/mL (mCi/mL), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril e incolor do complexo formado entre o tecnécio-99m, da solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc), e o pentetato de sódio, em presença de um agente redutor. A atividade presente em outras formas químicas que não sejam o complexo não deve ultrapassar 10% da atividade total. Pode conter conservantes, antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes e soluções tampão adequadas.

IDENTIFICAÇÃO

A. O produto deve atender aos requisitos do teste de Identificação Radionuclídica e de Pureza Radionuclídica da monografia *Pertecnetato de sódio (99m Tc), solução injetável.*

B. Examinar o cromatograma obtido no ensaio de pureza radioquímica. A distribuição da atividade contribui para a identificação da preparação.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,8 a 7,5.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em papel* (**5.2.17.2**), do tipo ascendente.

Solução amostra: a solução injetável de pentetato de sódio (99m Tc) a ser analisada.

A. *Fase estacionária*: utilizar uma tira de papel cromatográfico.
Fase móvel: solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).
Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que possibilite a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre e o pentetato de sódio (99m Tc) migram com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O tecnécio-99m na forma coloidal fica retido no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).

B. *Fase estacionária*: utilizar uma tira de papel cromatográfico.
Fase móvel: acetona.
Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que possibilite a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre migra com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O pentetato de sódio (99m Tc) e o tecnécio-99m na forma coloidal ficam retidos no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).

O porcentual de atividade correspondente à soma dos porcentuais de atividade das impurezas nos cromatogramas obtidos nos testes A, tecnécio-99m na forma coloidal, e B, pertecnetato livre, não deve exceder 10,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

Distribuição biológica. Administrar por via intravenosa um volume máximo de 0,2 mL de solução injetável de pentetato de sódio (99m Tc) na veia caudal ou safena de três ratos (150-250 g). Medir a atividade da seringa antes e após a administração. Extirpar a cauda, se a veia caudal foi utilizada para a injeção. Determinar o porcentual de radioatividade em cada órgão segundo a expressão:

$$(A/B) \times 100$$

em que

A é a radioatividade do órgão e B é a radioatividade total, que equivale à diferença entre as duas medidas da seringa menos a atividade da cauda.

Duas horas após a injeção, a soma das porcentagens de radioatividade encontradas na urina e na bexiga deve ser maior do que 85% da radioatividade injetada e menos do que 1% da atividade injetada deve ser encontrada no fígado em não menos de dois dos três animais.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci), ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

ROTULAGEM

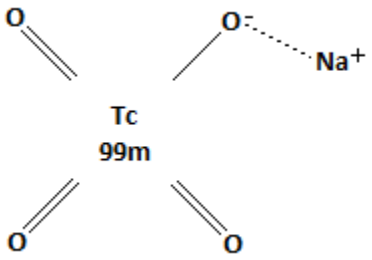
Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.

PERTECNETATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL

Technetii (^{99m}Tc) solutio iniectabilis



Na[^{99m}Tc]O_4; 185,89 g/mol
pertecnetato de sódio (99m Tc); 09750
ácido pertécnico ($H^{99m}TcO_4$), sal sódico
[*23288-60-0*]

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% de pertecnetato de sódio (99m Tc), expresso em MBq/mL (mCi/mL), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril e incolor de pertecnetato de sódio (99m Tc), preparada a partir da adição de solução isotônica de cloreto de sódio. A solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc) é obtida por separação química, a partir de uma preparação de molibdênio-99.
No mínimo 95% da atividade deve corresponder ao tecnécio-99m na forma do íon pertecnetato.
O tecnécio-99m é um radionuclídeo formado pela desintegração do molibdênio-99, tem uma meia-vida física de 6,007 horas e emite radiação gama.
O molibdênio-99 é um isótopo radioativo, obtido a partir dos produtos de fissão do urânio ou de irradiação neutrônica do molibdênio enriquecido em molibdênio-98.

IDENTIFICAÇÃO

O espectro gama, obtido com um sistema de espectrometria gama devidamente calibrado, deve corresponder ao do tecnécio-99m quanto às suas energias e intensidades, conforme indicado em *Radiofármacos* **(8.3)**. O fóton gama principal do tecnécio-99m tem uma energia de 140 keV.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 8,0.

Alumínio.
Nota: *determinar quando, na obtenção da solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc), a separação for efetuada através de uma coluna de alumina.*
Solução amostra: diluir 1 mL da solução injetável de pertecnetato de (^{99m}Tc) de sódio até 2,5 mL, com água.
Solução de referência: preparar ao mesmo tempo que a *Solução amostra* e utilizar 2 mL de solução padrão de alumínio (2 ppm Al).

Preparação da solução padrão de Al: dissolver em água 35,17 mg de sulfato de alumínio e potássio dodecaidratado, pesados com exatidão, e diluir até 1000 mL. Cada mL dessa solução contém 2 µg de Al.
Procedimento: em um tubo de ensaio de 12 mm de diâmetro interno, misturar 1 mL de solução tampão de acetato 0,5 *M*, pH 4,6 e 2 mL da *Solução amostra*. Adicionar 50 µL de uma solução de cromazurol de 10 g por litro. Após três minutos, a cor da solução não deve ser mais intensa do que a de uma solução de referência. A concentração de alumínio no eluato deve ser, no máximo, 5 ppm.

Metiletilcetona.
Nota: *determinar se a separação for feita por meio de extração líquido-líquido na preparação da solução injetável.*
Procedimento: adicionar 1 mL da solução injetável em um recipiente adequado e diluir com água até 20 mL. Acrescentar 2 mL de hidróxido de sódio *M*, misturar e, em seguida, gotejar 2 mL de iodo 0,1 *M*, misturando novamente. Ao mesmo tempo, desenvolver uma preparação padrão adicionando 1 mL de uma solução de metiletilcetona (1 em 1000) em um recipiente similar e diluindo com água até 20 mL. Acrescentar 2 mL de hidróxido de sódio *M*, misturar e, em seguida, gotejar 2 mL de iodo 0,1 *M*, misturando novamente. Após dois minutos, a turbidez da *Solução amostra* não deve exceder à da preparação padrão (0,1%).

Pureza radionuclídica.
Ensaio preliminar: obter uma estimativa aproximada, antes de usar a solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc), utilizando um volume de solução de tecnécio-99m que contenha cerca de 370 MBq (10 mCi) e determinar sua atividade com um ativímetro devidamente calibrado e utilizando a escala de tecnécio-99m, como indicado em *Radiofármacos* **(9)**. Registrar a atividade medida. Medir a atividade de molibdênio-99 na mesma *Solução amostra*, alterando a escala do ativímetro para a do molibdênio-99 e colocando a *Solução amostra* dentro da blindagem de chumbo de 6 mm de espessura, necessários para a referida determinação. A atividade de molibdênio-99 deve ser, no máximo, 0,15 kBq por MBq (0,15 µCi por mCi) de tecnécio-99m, da medida previamente determinada.

Ensaio de pureza na solução teste decaída: guardar uma amostra de solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc) a ser analisada, durante intervalo suficiente (três a cinco dias) para que a radioatividade do tecnécio-99m decresça e possibilite a detecção de impurezas radionuclídicas. Todas as medições de atividade deverão se referir à data e hora da administração. Obter o espectro de radiação gama a partir da solução teste utilizando um sistema de espectrometria gama de alta resolução.

Para a solução injetável preparada a partir de tecnécio-99m derivado do precursor molibdênio-99 como resultado do bombardeamento neutrônico do molibdênio estável, proceder aos ensaios abaixo:

MOLIBDÊNIO-99: a presença de molibdênio-99 na solução injetável é evidenciada por seu espectro característico de raios gama. Os fotopicos mais proeminentes desse radionuclídeo possuem energias de 0,181; 0,740 e 0,780 MeV. A atividade de molibdênio-99 deve ser, no máximo, 0,15 kBq por MBq (0,15µCi por mCi) de tecnécio-99m, por dose administrada de solução injetável, no momento da administração.

OUTRAS IMPUREZAS RADIONUCLÍDICAS EMISSORAS DE RAIOS GAMA:
a atividade total de outras impurezas radionuclídicas emissoras de raios gama não deve exceder 0,5 kBq por MBq (0,5 µCi por mCi) de tecnécio-99m, nem 92 kBq (2,5 µCi) por dose administrada de solução injetável, no momento da administração.

Para a solução injetável preparada a partir de tecnécio-99m derivado do precursor molibdênio-99 obtido como resultado da fissão de urânio, proceder aos ensaios a seguir.

MOLIBDÊNIO-99: a solução injetável deve atender aos requisitos estabelecidos para solução injetável preparada por irradição de molibidênio estável com nêutrons (ver anteriormente).

IODO-131: o fotopico mais proeminente desse radionuclídeo tem uma energia de 0,364 MeV. A atividade de iodo-131 deve ser, no máximo, 0,05 kBq por MBq (0,05 μCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

RUTÊNIO-103: o fotopico mais proeminente desse radionuclídeo tem uma energia de 0,497 MeV. A atividade de rutênio-103 deve ser, no máximo, 0,05 kBq por MBq (0,05 μCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

ESTRÔNCIO-89: determinar a presença de estrôncio-89 na solução injetável utilizando um sistema de contagem adequado para a detecção de radiação corpuscular. O estrôncio-89 se desintegra por emissão beta, com uma energia máxima de 1,463 MeV. A atividade de estrôncio-89 deve ser, no máximo, 0,0006 kBq por MBq (0,0006 μCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

ESTRÔNCIO-90: determinar a presença de estrôncio-90 na solução injetável utilizando um sistema de contagem adequado para a detecção de radiação corpuscular. O estrôncio-90 se desintegra por emissão beta, com uma energia máxima de 0,546 MeV. A atividade de estrôncio 90 deve ser, no máximo, 0,00006 kBq por MBq (0,00006 μCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

OUTRAS IMPUREZAS RADIONUCLÍDICAS: as atividades de outras impurezas radionuclídicas emissoras de raios gama e beta devem corresponder a, no máximo, 0,01% no momento da administração. A atividade alfa total deve ser, no máximo, 0,001 Bq por 1 MBq (ou 0,001 μCi por 1 mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em papel* (**5.2.17.2**), do tipo ascendente.

Solução amostra: diluir a solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc) com água para obter uma concentração radioativa adequada ao sistema de detecção do equipamento.
Fase estacionária: utilizar uma tira de papel cromatográfico.
Fase móvel: álcool metílico e água (85:15).
Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que possibilite a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O valor de R_f correspondente ao íon pertecnetato encontra-se entre 0,9 e 1,0. No mínimo 95% da atividade total deve corresponder ao íon pertecnetato.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci) ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* **(8.3)**. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blidagem de proteção para radiação.

ROTULAGEM

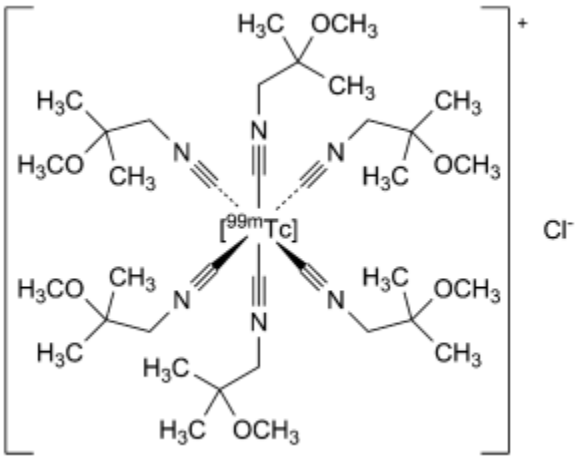
Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.

SESTAMIBI (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL

Technetii (^{99m}Tc) sestamibi solutio iniectabilis



[99mTc]$C_{36}H_{66}N_6O_6$; 775,41
sestamibi (99m Tc); 08338
cloreto de (*OC*-6-11)-hexaquis[1-(isociano-κ*C*)-2-metoxi-2-metilpropano] [99mTc]tecnécio(I);
MIBI-^{99m}Tc
[*109581-73-9*]

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% da radioatividade de sestamibi (99m Tc), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril e incolor do complexo formado entre o tecnécio-99m, da solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc), e o tetrafluoroborato de tetraquis(2-metoxi-2-metilpropil-1-isocianeto) cobre (I), em presença de um agente redutor e de um quelante fraco. A atividade presente em outras formas químicas que não sejam o complexo não deve ultrapassar 10% da atividade total. Pode conter conservantes, antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes e soluções tampão adequadas.

IDENTIFICAÇÃO

A. O produto deve atender aos requisitos do teste de *Identificação radionuclídica* e de *Pureza radionuclídica* da monografia *Pertecnetato de sódio (99m Tc), solução injetável.*

B. Examinar o cromatograma obtido no ensaio de pureza radioquímica. A distribuição da atividade contribui para a identificação da preparação.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,0.

Pureza radioquímica.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* **(5.2.17.1)**.

Solução amostra: solução injetável de sestamibi (99m Tc) a ser analisada.
Fase estacionária: placa cromatográfica de fase reversa (sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano) com dimensões adequadas.
Fase móvel: solução de acetonitrila: metanol: acetato de amônio 3,85%: tetraidrofurano (4:3:2:1).
Procedimento: aplicar sobre a placa cromatográfica de 2 µL a 5 µL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que permita a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado.

O valor de R_f correspondente ao sestamibi (99m Tc) e à impureza (*OC*-6-22)-pentaquis[1-(isociano-κ*C*)-2-metoxi-2-metilpropano][1-(isociano-κ*C*)-2-metilprop-1-eno][^{99m}Tc]tecnécio(1+), também denominada pentamibi-^{99m}Tc, encontra-se entre 0,3 e 0,6. O valor de R_f correspondente ao íon pertecnetato (99m Tc) encontra-se entre 0,8 e 1,0. O valor de R_f correspondente ao tecnécio-99m na forma coloidal encontra-se entre 0,0 e 0,1. No mínimo 90% da atividade total deve estar entre o R_f 0,3 e 0,6. O porcentual de atividade correspondente à soma dos porcentuais de atividade das impurezas pertecnetato (99m Tc) livre e tecnécio-99m na forma coloidal deve ser, no máximo, 10%.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (**5.2.17.4**). Utilizar cromatógrafo provido de detector de radioatividade; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (10 µm); fluxo da *Fase móvel* cerca de 2 mL/minuto. Se o pico da impureza pentamibi-^{99m}Tc estiver presente, sua retenção relativa em relação ao pico do sestamibi (99m Tc) é de 1,3 a 1,5.

Solução amostra: solução injetável de sestamibi (99m Tc) a ser analisada.

Fase móvel: preparar uma mistura filtrada e degaseificada de metanol, solução de sulfato de amônio 0,05 *M* e acetonitrila (45:35:20).

Procedimento: injetar cerca de 5 µL (9,375 MBq ou 250 µCi) de *Pertecnetato de sódio (99m Tc), solução injetável* no cromatógrafo e ajustar o detector para que o pico esteja entre 25% e 100% da escala total. Injetar separadamente volumes iguais (aproximadamente 5 µL, 9,375 MBq ou 250 µCi) da *Solução amostra* no cromatógrafo, registrar os cromatogramas e medir a porcentagem de área para todos os picos presentes. O tempo de retenção do sestamibi (99m Tc) é cerca de cinco a 10 minutos e o tempo de retenção da impureza (pentamibi-^{99m}Tc) é cerca de seis a 13 minutos. Corrigir a presença do tecnécio-99m na forma coloidal, que não é determinado por este método, utilizando a seguinte equação:

$$F = (100\% - P) / 100$$

Em que *F* é o fator de correção e *P* é a porcentagem do tecnécio-99m na forma coloidal obtida pelo método **A.** Obter a área percentual corrigida, multiplicando-se *F* pela área percentual dos picos presentes no cromatograma.

Uma média de, no mínimo, 90% (porcentagem de área corrigida) da atividade total deve corresponder ao sestamibi (99m Tc) e uma média de, no máximo, 5% (porcentagem de área corrigida) da atividade total pode corresponder ao pentamibi-^{99m}Tc.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* (**8.3**). Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci) ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos* (**8.3**). Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico

FARMACOPEIA BRASILEIRA

6ª EDIÇÃO



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira,

6ª edição

Volume II – Monografias

Gases Medicinais

Brasília
2019

GASES MEDICINAIS

AR COMPRIMIDO MEDICINAL	GM001-00
AR SINTÉTICO MEDICINAL	GM002-00
DIÓXIDO DE CARBONO	GM003-00
OXIGÊNIO	GM004-00

AR COMPRIMIDO MEDICINAL
Aer medicinalis

ar medicinal; 11403

Essa monografia é aplicável ao ar comprimido medicinal, obtido por compressão do ar atmosférico ou por meio do processo de liquefação criogênica, seguido de compressão.

ESPECIFICAÇÃO GERAL

Contém uma concentração mínima de 19,5% v/v e máxima 23,5% v/v de oxigênio.

DESCRIÇÃO

Características físicas. O ar medicinal, nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), é um gás incolor, insípido, inodoro, não tóxico, não inflamável. O ar medicinal a 1 atm de pressão e à temperatura ambiente encontra-se no estado gasoso.

Solubilidade. Baixa solubilidade em água.

Informações adicionais. As análises do ar medicinal descritas nessa monografia não necessitam ser realizadas pelo serviço de saúde, desde que esse não produza localmente o produto e atenda aos requisitos das normas e regulamentações em vigor.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpre os requerimentos de *Pureza*, em *Ensaios de pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por análise paramagnética* **(5.8.1.3)**. A pureza do ar medicinal deve ser, no mínimo, 19,5% v/v e, no máximo, 23,5% v/v.

Vapor d'água. No máximo, 67 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando higrômetro eletrolítico* **(5.8.2.1)**.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando tubos detectores* **(5.8.2.2)**.

Monóxido de carbono. No máximo, 5 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo* **(5.8.1.2)**.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 3,5 e 4,5 micromol/mol (ppm) de monóxido de carbono de pureza mínima de 99,99% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores* **(5.8.1.1)**.

Dióxido de carbono. No máximo, 500 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo* **(5.8.1.2).**

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 200 e 250 micromol/mol (ppm) de dióxido de carbono de pureza mínima de 99,999% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores* **(5.8.1.1)**.

Dióxido de enxofre. No máximo, 1 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no ultravioleta* **(5.8.1.4)**.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de enxofres totais < 0,1 micromol/mol (ppm), monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 0,5 e 2 micromol/mol (ppm) v/v de dióxido de enxofre de pureza mínima de 99,9% v/v em nitrogênio, de pureza mínima 99,999% v/v, contendo impurezas de enxofres totais < 0,1 micromol/mol (ppm), monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de enxofre.

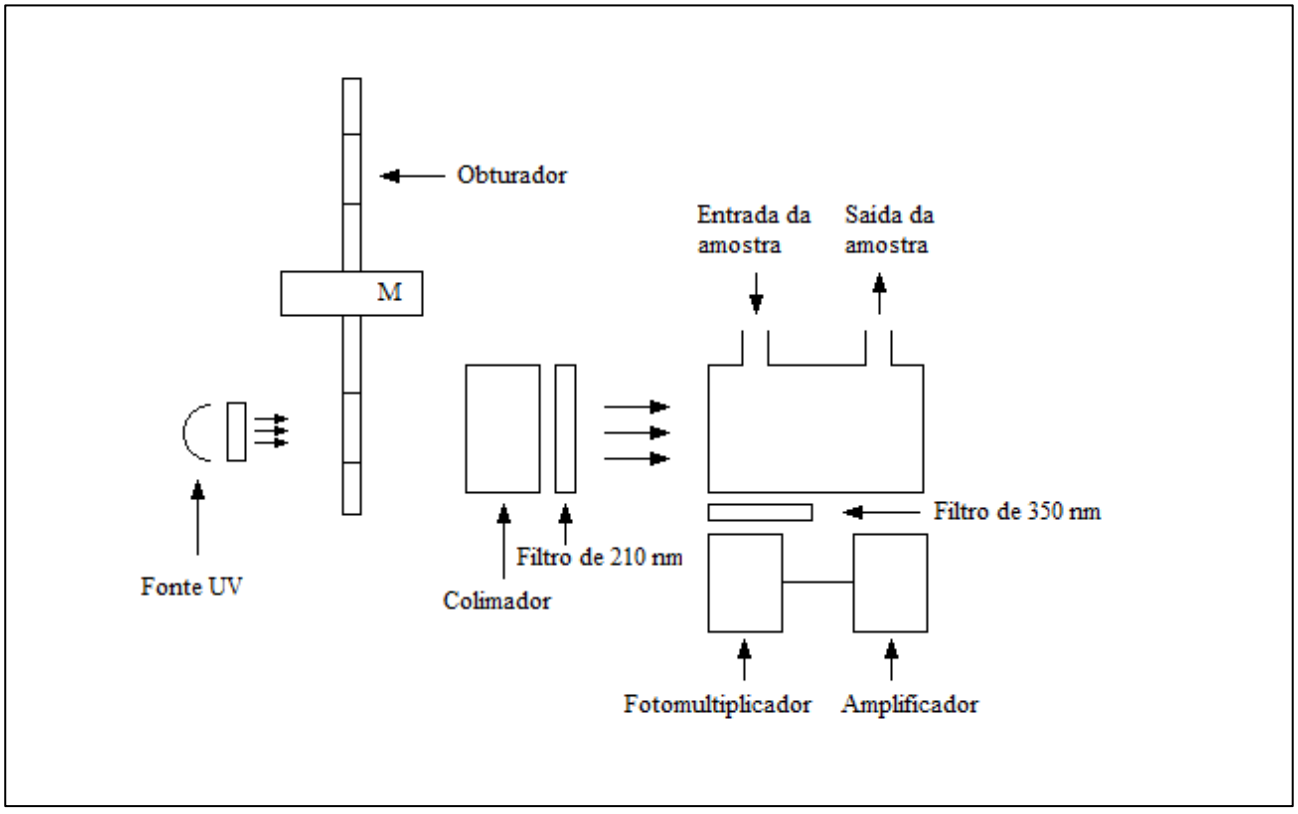


Figura 1 – Analisador de fluorescência no UV.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores* **(5.8.1.1)**.

Monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio. No máximo, o total de 2 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por luminescência química* **(5.8.1.5)**.

Ajuste do equipamento: passar pela cela da amostra para ajuste do zero a mistura contendo uma concentração nominal de 21% v/v de oxigênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de nitrogênio e argônio < 100 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 10 micromol/mol (ppm) e monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), em nitrogênio de pureza mínima 99,999%, contendo impurezas monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm). A mistura deve conter menos que 0,05 micromol/mol (ppm) de monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração nominal de 2,0 micromol/mol (ppm) de monóxido de nitrogênio de pureza mínima de 98,0% v/v, em nitrogênio de pureza mínima 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores* **(5.8.1.1)**.

Óleo. No máximo, 0,1 micromol/mol (ppm). Proceder conforme descrito em *Determinação de óleo em gases medicinais* **(5.8.3)**, apenas para o caso do uso de compressores lubrificados a óleo.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre com o estabelecido em *Gases medicinais*.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

AR SINTÉTICO MEDICINAL
Aer medicinalis artificiosus

O_2; 32,00
oxigênio; 11121
[*7782-44-7*]

N_2; 28,01
nitrogênio; 10064
[*7727-37-9*]

Esta monografia é aplicável ao ar sintético para uso medicinal.

ESPECIFICAÇÃO GERAL

Mistura de nitrogênio e oxigênio. Contém, no mínimo, 21,0% v/v e, no máximo, 22,5% v/v de oxigênio.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Gás incolor e inodoro.

Solubilidade. A 20 ºC de temperatura e 101 kPa de pressão, um volume de gás dissolve em 50 volumes de água, aproximadamente.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpre os requerimentos de *Pureza*, em *Ensaios de pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por análise paramagnética* (**5.8.1.3)**. A pureza do ar sintético deve ser no mínimo 21,0% v/v e no máximo 22,5% v/v.

Vapor d'água. No máximo 67 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando higrômetro eletrolítico* **(5.8.2.1).**

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando tubos detectores* **(5.8.2.2)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre com o estabelecido em *Gases Medicinais.*

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

DIÓXIDO DE CARBONO
Carbonei dioxidum

CO_2; 44,01
dióxido de carbono; 09427
[*124-38-9*]

Essa monografia é aplicável ao dióxido de carbono para uso medicinal.

ESPECIFICAÇÃO GERAL

Contém, no mínimo, 99,0% v/v de dióxido de carbono na fase gasosa.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Gás incolor.

Solubilidade. Um volume de dióxido de carbono solubiliza-se em, aproximadamente, um volume de água a 20 °C e pressão de 101 kPa.

Informações adicionais. Deve-se examinar a fase gasosa. Se o teste for executado em cilindro, manter o mesmo à temperatura ambiente até a estabilização das fases líquida e gasosa do produto.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpre os requerimentos de *Pureza*, em *Ensaios de pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza. A pureza deve ser maior ou igual a 99,0% v/v. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo* **(5.8.1.2)**.

Ajuste do equipamento: passar o gás dióxido de carbono de pureza mínima de 99,995% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), oxigênio < 25 micromol/mol (ppm) e óxido nítrico < 1 micromol/mol (ppm) pela cela da amostra para ajuste do zero.

Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura com concentração de 95% v/v de dióxido de carbono de pureza mínima de 99,995% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), oxigênio < 25 micromol/mol (ppm) e óxido nítrico < 1 micromol/mol (ppm), em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm) e oxigênio < 5 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de carbono.

Vapor d'água. No máximo, 67 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Higrômetro eletrolítico* **(5.8.2.1)**.

B. Proceder conforme descrito em *Tubos detectores de gases* **(5.8.1.1)**.

Monóxido de carbono. No máximo, 5 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* **(5.2.17.5)**.

Gás amostra: gás a ser examinado.

Gás de referência: mistura contendo 5 micromol/mol (ppm) de monóxido de carbono de pureza mínima de 99,97% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas com catalisador de metanador (Detector FID); coluna empacotada de aço inoxidável com 2 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno preenchida com fase estacionária de peneira molecular; temperatura da coluna de 50 ºC e temperatura do detector e do injetor de 130 °C; utilizar hélio com pureza mínima 99,995% como gás de arraste com pressão 25 psi e fluxo de 60 mL/min.

Injetar, separadamente, 0,5 mL do *Gás amostra* e do *Gás de referência* no cromatógrafo a gás. Obter os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a concentração de monóxido de carbono no *Gás amostra.*

B. Proceder conforme descrito em *Tubos detectores de gases* **(5.8.1.1)**.

Monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio. No máximo, o total de 2 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases medicinais por luminescência química* **(5.8.1.5)**.

Ajuste do equipamento: passar o gás dióxido de carbono de pureza mínima de 99,995% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), oxigênio < 25 micromol/mol (ppm) e monóxido de nitrogênio < 1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero.

Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura de referência, contendo uma concentração nominal de 2,0 micromol/mol (ppm) de monóxido de nitrogênio de pureza mínima de 98,0% v/v, em nitrogênio de pureza mínima 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), ou em dióxido de carbono de pureza mínima de 99,995% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), oxigênio < 25 micromol/mol (ppm) e monóxido de nitrogênio < 1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio.

Se for usado o nitrogênio ao invés do dióxido de carbono na mistura de ajuste do equipamento, deve-se multiplicar o resultado obtido pelo fator de correção para corrigir o efeito de resfriamento causado no analisador como resposta ao efeito matriz do dióxido de carbono.

O fator de correção de resfriamento é determinado aplicando uma referência conhecida da mistura de monóxido de nitrogênio em dióxido de carbono e comparando o conteúdo atual com o conteúdo indicado pelo analisador que foi previamente calibrado com a mistura referência NO/NO_2.

$$Fator\ de\ correção = \frac{leitura\ de\ NO\ da\ mistura\ de\ referência\ na\ última\ medição}{leitura\ de\ NO\ da\ mistura\ de\ referência\ na\ primeira\ medição}$$

em que

NO = monóxido de nitrogênio

B. Proceder conforme descrito em *Tubos detectores de gases* **(5.8.1.1)**.

Enxofre total. No máximo, 1 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no ultravioleta* **(5.8.1.4)**.

O conteúdo de enxofre é determinado por meio de um analisador fluorescente de ultravioleta depois da oxidação dos compostos sulfúricos por aquecimento até a temperatura de 1000 °C.

Ajuste do equipamento: passar o gás dióxido de carbono de pureza mínima de 99,995% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), oxigênio < 25 micromol/mol (ppm) e monóxido de nitrogênio < 1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero.

Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura de referência, contendo uma concentração entre 0,5 e 2 micromol/mol (ppm) v/v de sulfeto de hidrogênio de pureza mínima de 99,7% v/v em dióxido de carbono de pureza mínima de 99,995% v/v, contendo impurezas de

monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), oxigênio < 25 micromol/mol (ppm) e monóxido de nitrogênio < 1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra através do forno de quartzo previamente aquecido até 1000 ºC. O gás oxigênio, de pureza mínima de 99,99% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 10 micromol/mol (ppm) e nitrogênio e argônio < 100 micromol/mol (ppm), circula no forno até 1/10 da taxa de fluxo da amostra. Medir o teor de dióxido de enxofre na mistura gasosa que sai do forno.

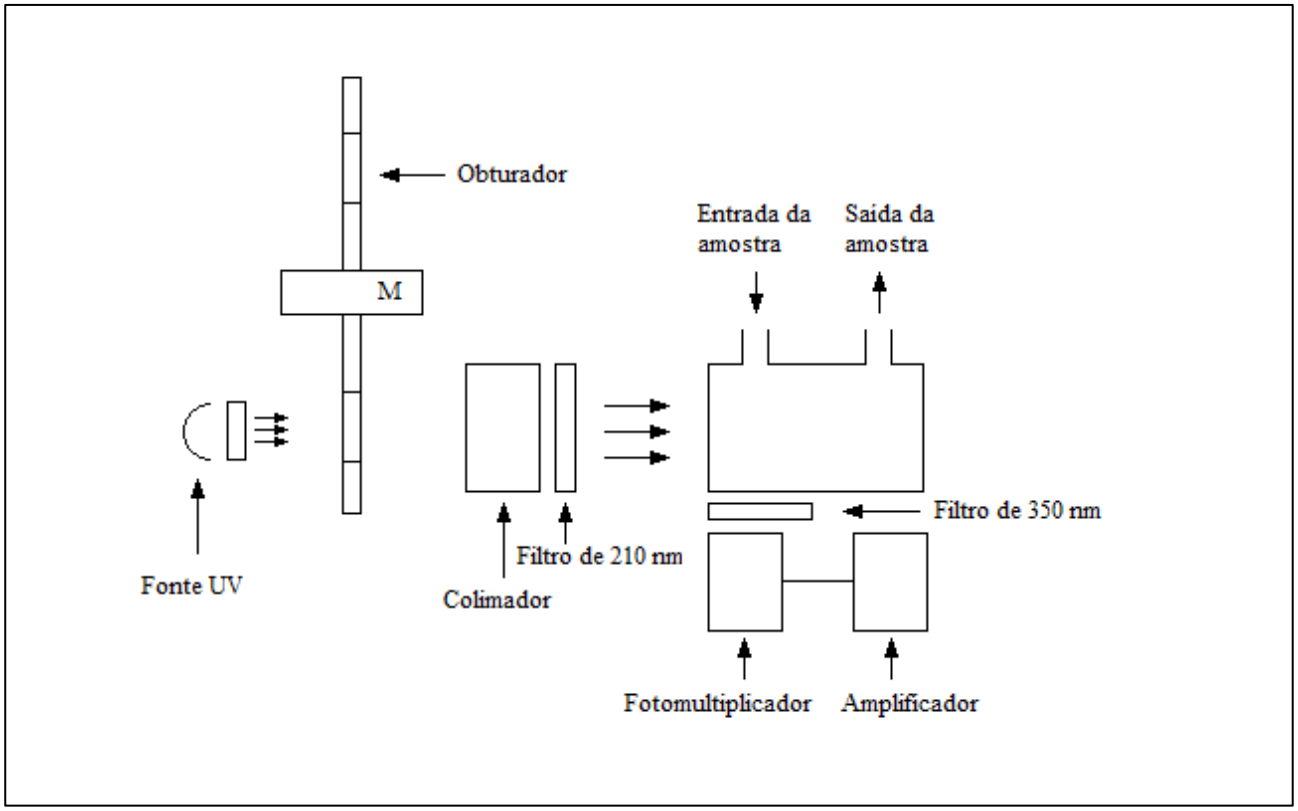


Figura 1 – Analisador de fluorescência no UV.

B. Proceder conforme descrito em *Tubos detectores de gases* **(5.8.1.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre com o estabelecido em *Gases Medicinais.*

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

OXIGÊNIO
Oxygenium

O = O

O_2; 32,00
oxigênio; 11121
[*7782-44-7*]

Essa monografia é aplicável ao oxigênio para uso medicinal, comprimido ou não, obtido por meio do processo de liquefação criogênica.

ESPECIFICAÇÃO GERAL

Contém oxigênio na pureza mínima de 99,0% v/v.

DESCRIÇÃO

Características físicas. O oxigênio, nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), é um gás incolor, insípido, inodoro, não tóxico, comburente, não combustível. O oxigênio a 1 atm de pressão e a -183 ºC de temperatura, encontra-se no estado líquido (criogênico) e de coloração levemente azulada.

Solubilidade. Baixa solubilidade em água. Um volume de oxigênio solubiliza-se em, aproximadamente, 32 volumes de água e em sete volumes de álcool etílico (95 °GL) a 20 °C e pressão de 101,3 kPa.

Constantes físico-químicas. 1000 mL de oxigênio a 0 °C e à pressão de 101,3 kPa pesam em torno de 1,429 g.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpre os requerimentos de *Pureza*, em *Ensaios de pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por análise paramagnética* **(5.8.1.3)**. A pureza deve ser maior ou igual a 99,0% v/v.

Vapor d'água. No máximo, 67 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando higrômetro eletrolítico* **(5.8.2.1)**.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando tubos detectores* **(5.8.2.2)**.

Nota: *os ensaios a seguir (Monóxido de carbono e Dióxido de carbono) somente devem ser realizados para os produtos que são envasados em cilindros. Portanto os produtos líquidos acondicionados em tanques criogênicos e caminhões tanque ficam isentos da realização dos ensaios a seguir.*

Monóxido de carbono. No máximo, 5 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por* e*spectrofotometria no infravermelho não dispersivo* **(5.8.1.2)**.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 3,5 e 4,5 micromol/mol (ppm) de monóxido de carbono de pureza mínima de 99,99% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores* **(5.8.1.1)**.

Dióxido de carbono. No máximo, 300 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por* e*spectrofotometria no infravermelho não dispersivo* **(5.8.1.2)**.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 200 e 250 micromol/mol (ppm) de dióxido de carbono de pureza mínima de 99,999% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores* **(5.8.1.1)**.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpre com o estabelecido em *Gases medicinais*.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.