

ALCACHOFRA, extrato fluido

Cynarae extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Cynara scolymus* L., contendo, no mínimo, 0,7% de ácido clorogênico (C₁₆H₁₈O₉, 354,31).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração verde escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: acetato de etila, água, ácido acético e ácido fórmico (100:26:11:11).

Solução amostra: secar 1 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a de 60°C. Suspender o resíduo em 5 mL de álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver o ácido clorogênico em álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver a luteolina-7-*O*-glicosídeo em álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, a seguir com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

<i>Parte superior da placa</i>		
	Luteolina-7- <i>O</i> -glicosídeo: zona de fluorescência amarelada	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarelada
Ácido clorogênico: zona de fluorencência azul		Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarelada
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,2052 a 1,2316.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 56% (v/v) a 60% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 16,0% (p/p).

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

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

DOSEAMENTO

Ácido clorogênico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 330 nm, pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Eluente (A): mistura de água, acetonitrila e ácido fosfórico (92,6:7:0,4).

Eluente (B): mistura de acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
0 – 17	100	0	Isocrática
17 – 50	100 → 80	0 → 20	gradiente linear
50 – 51	80 → 0	20 → 100	gradiente linear
51 – 61	0	100	Isocrática
61 – 62	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
62 – 72	100	0	Isocrática

Solução amostra: homogeneizar a amostra em banho de ultrassom por 10 minutos, pipetar 0,5 mL do extrato fluido e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 100 mL de álcool metílico e levar novamente ao ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 5,0 mg de ácido clorogênico. Transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com álcool metílico.

Solução referência: transferir 5,0 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 20 mL, adicionar 5 mL de álcool metílico e completar o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos do ácido clorogênico, do ácido cafeico e da cinarina. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para o ácido clorogênico, 1,21 para ácido cafeico, 4,14 para cinarina, identificados na *Solução amostra*. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

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

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.