

BOLDO, extrato fluido
Boldus extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Peumus boldus* Molina, contendo, no mínimo, 0,10% de alcaloides totais expressos em boldina (C₁₉H₂₁NO₄, 327,38).

PREPARAÇÃO

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

CARACTERÍSTICAS

Líquido verde escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

Fase móvel: tolueno, álcool metílico e dietilamina (80:10:10).

Solução amostra: transferir 25 mL do extrato e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo com duas porções de 10 mL de ácido clorídrico 2 M. Filtrar a solução em algodão e alcalinizar com hidróxido de amônio 6 M até pH 9. Transferir a solução para um funil de separação. Extrair duas vezes com 20 mL de éter etílico. Reunir a fase orgânica e filtrar em papel de filtro. Secar a fase orgânica até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de boldina em álcool metílico, para obter a concentração de 400 µg/mL.

Revelador: iodobismutato de potássio aquo-acético.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL das *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio aquo-acético. Deixar secar a placa ao ar por cinco minutos. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR. Após 30 minutos examinar sob a luz visível.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz ultravioleta em 365 nm e sob a luz visível, na ordem. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
<p>Boldina: zona de fluorescência azul</p>	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
<p>Boldina: zona de coloração marron</p>	Zona de coloração verde
	Zona de coloração marron
	Zona de coloração marron
	Zona de coloração marron
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0459 a 1,0592.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 39,2% (v/v) a 40,4% (v/v). Proceder conforme descrito em tratamentos especiais, líquidos com menos de 50% de álcool.

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 35,0% (p/v).

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

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

DOSEAMENTO

Alcaloides totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 304 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura da *Solução A* e *Solução B* (16:84).

Solução A: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de acetonitrila.

Solução B: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de água, ajustar o pH para 3,0 com ácido fórmico anidro.

Solução amostra: homogeneizar o extrato fluido e transferir, volumetricamente, 1 mL para um béquer de 250 mL. Lavar a pipeta com 3 mL de ácido clorídrico 5,5 M, transferindo para o béquer. Adicionar 50 mL de ácido clorídrico 5,5 M. Homogeneizar e verificar o pH que deve estar entre 2 e 3. Transferir, quantitativamente, a solução para um funil de separação de 250 mL e lavar o béquer com 10 mL de ácido clorídrico 5,5 M. Extrair com 100 mL de uma mistura de hexano e acetato de etila (1:1). Agitar vigorosamente. Após a separação das fases, descartar a fase orgânica. Transferir a fase aquosa para um béquer e adicionar hidróxido de amônio 6 M, aproximadamente 150 mL, até obter o pH 9,0. Transferir a amostra para outro funil de separação de 250 mL e extrair quatro vezes com 50 mL de cloreto de metileno. Reunir as fases orgânicas e adicionar 40 g de sulfato de sódio anidro. Agitar com bastão de vidro. Filtrar em papel de filtro para balão de fundo redondo de 250 mL. Lavar o béquer com três porções de 10 mL de cloreto de metileno. Filtrar e reunir as soluções orgânicas. Evaporar a solução até resíduo, em rotaevaporador, com temperatura não superior a 50 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de *Fase móvel*. Levar ao ultrassom por cinco minutos. Transferir a solução quantitativamente para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 12 mg de boldina e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de *Fase móvel*, levar ao ultrassom durante dois minutos, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL da solução obtida para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução amostra*, mínimo 1,0 entre os picos referentes a isoboldina e a boldina.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes a boldina e aos seis alcaloides descritos a seguir. Os tempos de retenção relativos à boldina são, aproximadamente, 0,9 para isoboldina, 1,0 para boldina, 1,8 para *N*-óxido de isocoridina, 2,2 para laurotetanina, 2,8 para isocoridina e 3,2 para *N*-metil laurotetanina. Calcular o teor de alcaloides totais expressos em boldina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{\sum A_1 \times m_r}{A_r \times m_a \times 100}$$

em que,

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

$\sum A_1$ = 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.