

ANGICO, extrato fluido
Anadenantherae extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 5,0% de taninos totais e, no mínimo, 0,13% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

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

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho-escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir 0,2 mL do extrato fluido para 10 mL de álcool metílico.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina a 1% (p/v) em álcool etílico e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

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

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

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0353 a 1,0704.

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

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 18,0% (p/p).

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

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

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g do extrato fluido, em balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5,0 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL

dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir, em água, 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio anidro 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

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

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

em que,

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

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas do extrato fluido utilizado;

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

Catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura de 23 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

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

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

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 15	70 → 50	30 → 50	gradiente linear
15 - 16	50 → 25	50 → 75	gradiente linear
16 - 17	25 → 70	75 → 30	gradiente linear
17 - 18	70	30	isocrática

Solução amostra: pipetar 50 µL do extrato fluido, transferir para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 7,56 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da catequina na amostra é de aproximadamente 6,1 minutos. Calcular o teor de catequina, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

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

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

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

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

m = massa em gramas do extrato fluido, determinada a partir da densidade;

10 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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