

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 colênnquima 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 F₂₅₄.

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 chromatoplaca 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 °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 (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

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

TESTES

Perda por dessecção (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 °C 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 °C 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:

$$\text{TA} = \frac{A_a \times m_r}{A_r \times m_a \times 100}$$

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 dessecção.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

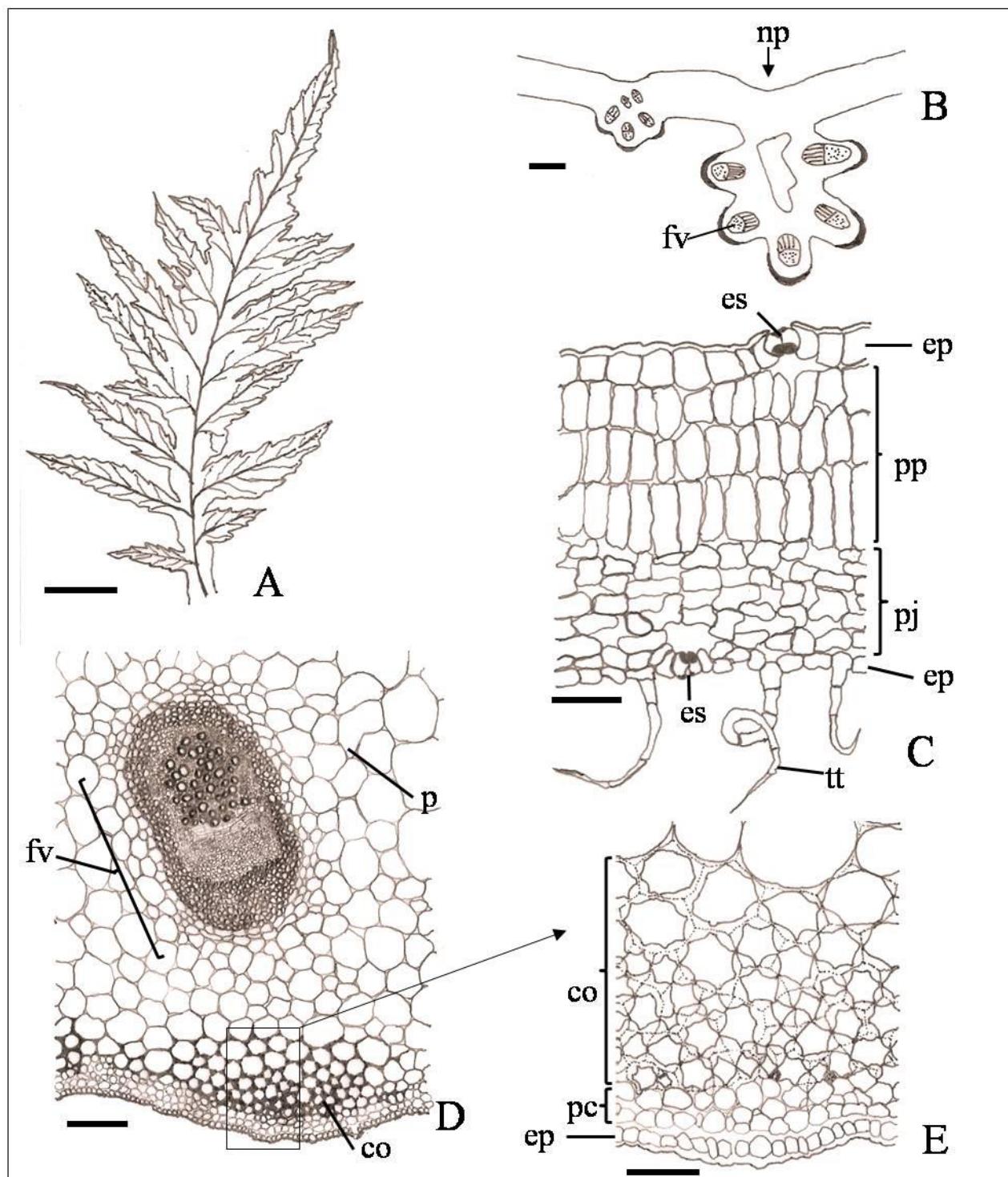


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cynara scolymus* L.

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 palicádico (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).

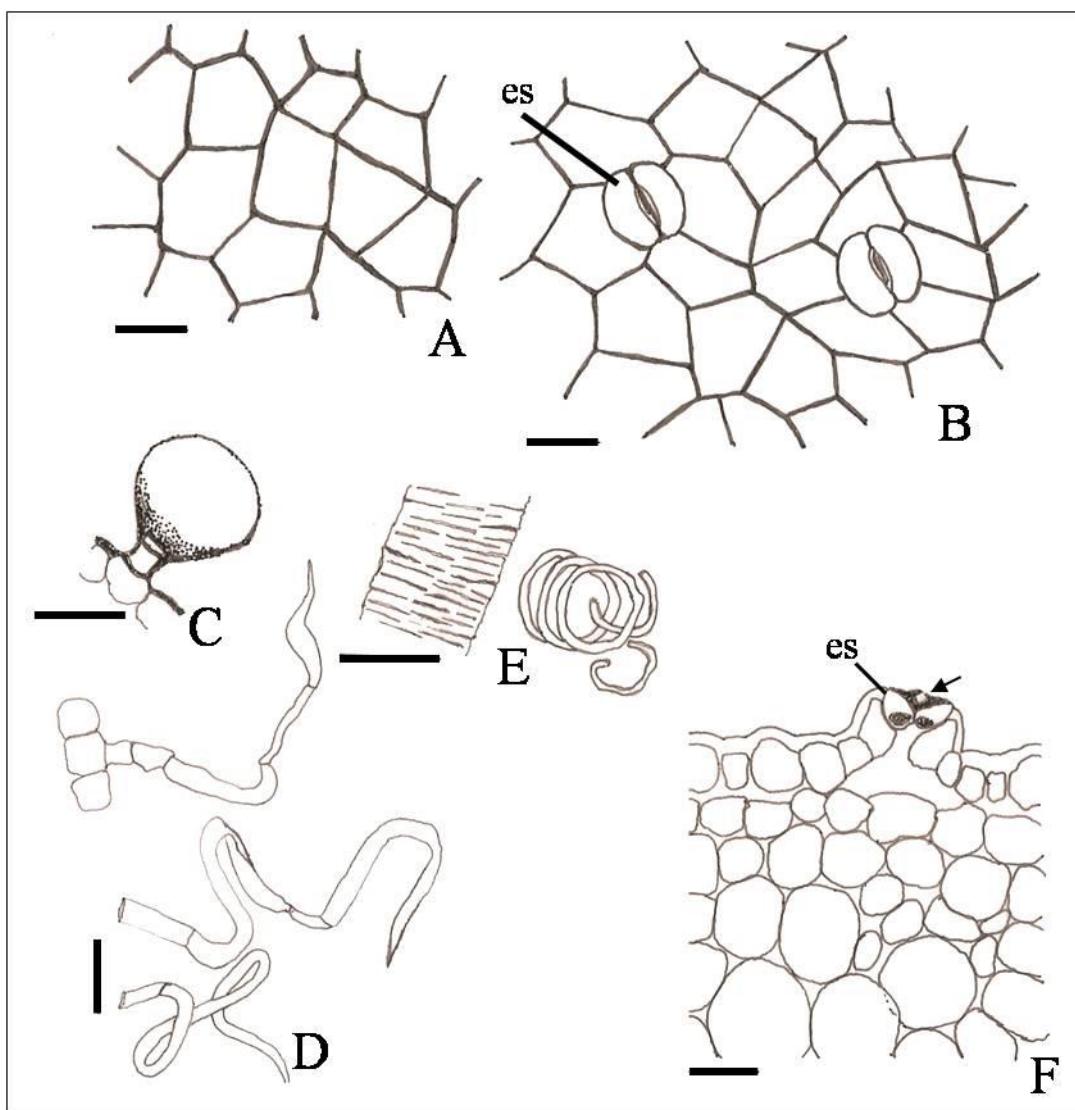


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Cynara scolymus* L.

As escamas 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).