

Orientação sobre seleção e determinação do teor de marcadores em extratos de *Cynara scolymus* (versão 2)

A GMESP, considerando que não há método disponível em farmacopeia reconhecida pela ANVISA para quantificação de derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico para emprego no controle do teor de marcadores em extratos de alcachofra (*Cynara scolymus*), traz o presente informe para harmonizar o controle de produtos obtidos dessa espécie.

Com a publicação da RDC nº 26/14, há atualmente três formas para comprovar segurança e eficácia de produtos à base de alcachofra: registro simplificado como medicamento fitoterápico pela IN nº 02/2014, registro simplificado como produto tradicional pela monografia da EMA, e comprovação de segurança e eficácia por meio de estudos não clínicos e clínicos.

O controle qualitativo e quantitativo de produtos à base de alcachofra irá depender da forma escolhida pela empresa:

- i. Registro simplificado de medicamento fitoterápico de acordo com a IN nº 02/2014: O extrato deverá ser padronizado em derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico e o perfil cromatográfico deve permitir a identificação da espécie e ser reprodutível lote a lote, além de ser estável. No medicamento, o teor médio desses marcadores por unidade de medida ou unidade farmacotécnica deve ser informado em bula e rotulagem;
- ii. Registro simplificado de produto tradicional fitoterápico de acordo com a monografia do EMA para a espécie vegetal: O extrato deverá ser padronizado em ácido clorogênico e atender aos requisitos de qualidade da monografia do respectivo extrato na Farmacopeia Europeia. A reprodutibilidade do teor desse marcador e do perfil cromatográfico deverá ser demonstrada após a avaliação de diferentes lotes de matéria-prima, preferencialmente obtidos em diversas épocas do ano e de diferentes fornecedores. A empresa deverá fazer um estudo dos seus lotes de produção a fim de estabelecer uma faixa de aceitação de liberação de lote acima do mínimo estabelecido para o ácido clorogênico na referida monografia. No medicamento, o teor médio desse marcador por unidade de medida ou unidade farmacotécnica deve ser informado em folheto informativo e rotulagem.
- iii. Registro mediante apresentação de ensaios não clínicos e clínicos de segurança e eficácia: A empresa poderá optar pela padronização do extrato em outros marcadores, desde que os estudos apresentados para comprovação da segurança e eficácia tenham sido conduzidos com extratos padronizados nesses constituintes. A estabilidade do teor de marcador selecionado e do perfil cromatográfico do derivado vegetal e do produto final deverá ser demonstrada. O teor médio desses marcadores

deve ser informado em bula e rotulagem, observando-se as doses e posologias informadas nos estudos apresentados no momento do registro.

Para os casos em que for escolhido pela empresa o item i, são fornecidas as seguintes orientações quanto a determinação do teor de derivados cafeoilquímicos em extratos de *Cynara scolymus*:

1. A IN nº 02/2014 define que os extratos de *Cynara scolymus* empregados na formulação de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado deverão ser padronizados em derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico, uma vez que os estudos clínicos avaliados utilizaram extratos padronizados nesses marcadores.

2. Considerando que os compêndios oficiais reconhecidos pela ANVISA não apresentam método analítico validado para a quantificação conjunta dos derivados cafeoilquímicos em extratos dessa espécie, recomenda-se que as empresas busquem desenvolver e validar métodos próprios, conforme as características de seu produto, a fim de quantificar esses marcadores nos extratos de *Cynara scolymus* e no produto final.

3. Para tanto, devem ser identificados e quantificados os seguintes derivados cafeoilquímicos: ácido clorogênico (ácido 3-O-cafeoilquínico); ácido criptoclorogênico (ácido 4-O-cafeoilquínico), ácido neoclorogênico (ácido 5-O-cafeoilquínico), ácido 1,5-di-O-cafeoilquínico, ácido 1,3-di-O-cafeoilquínico, ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico; ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico e ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico, além do ácido cafeico. Esses são os derivados cafeoilquímicos majoritários de extratos secos de alcachofra, de acordo com publicações técnicocientíficas, e há substância química de referência (SQR) disponível. Na impossibilidade de identificação de todos os constituintes supracitados, deverá ser apresentada justificativa.

4. Recomenda-se que sejam utilizados métodos cromatográficos condizentes com o estado da arte, que permitam a identificação dos picos correspondentes às referidas substâncias por meio da comparação dos respectivos tempos de retenção e espectros de absorção no UV com padrões de identidade e pureza conhecidos. Para determinação do teor de derivados do ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico, durante a validação do método deverão ser estabelecidos o tempo de retenção relativo e o fator de correlação entre cada componente identificado e o ácido clorogênico. Esse fator deverá ser considerado para conversão do fator resposta (área) para cada um dos picos no valor correspondente ao ácido clorogênico, na mesma concentração. As concentrações de cada derivado cafeoilquínico devem ser calculadas de acordo com a fórmula abaixo:

$$C = (A_t/A_c) \times C_c \times (V_t/W_t) \times F \times 100$$

At = área do pico do analito relevante na solução teste

Aac = área do pico do ácido clorogênico (SQR)

Cac = concentração do ácido clorogênico (SQR) na solução padrão (mg/ml)

Vt = volume de diluição da solução da amostra (ml)

Wt = peso da amostra (mg)

F = fator de conversão do analito relevante correspondente

O teor de derivados cafeoilquínicos na amostra, expressos como ácido clorogênico, deverá ser então calculado somando-se os valores obtidos para cada constituinte.

5. As empresas poderão optar pela utilização do método cromatográfico descrito na monografia da droga vegetal (*Cynarae folium*) da Farmacopeia Europeia (edição vigente), desde que sejam identificados, no cromatograma obtido, os picos referentes aos marcadores supracitados, estabelecendo a correlação entre estes e o ácido clorogênico, e que seja realizada uma validação parcial do referido método, a fim de produzir evidências documentadas de sua adequabilidade nas condições operacionais do laboratório, conforme RDC nº 166/2017.

Versão	Data	Alterações
01	-	Versão inicial.
02	30/09/2023	- Correções textuais; - Atualização das referências normativas; - Atualização da versão da Farmacopeia citada.