

CALÊNDULA, flor

Calendulae flos

A droga consiste de flores liguladas completamente abertas, separadas do receptáculo, dessecadas, inteiras ou fragmentadas, obtidas de capítulos simples ou semiduplicados de *Calendula officinalis* L., acompanhadas de escassas flores tubulosas, brácteas involucrais e raros frutos. Não deve conter menos que 0,4% de flavonoides totais, calculados como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂, 464,38), em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores liguladas, femininas, de 15 a 30 mm de comprimento e 5 a 7 mm de largura na porção mediana da lígula, amareladas, amarelo-alaranjadas a pardo-alaranjadas, com o tubo curto externamente piloso e com a lígula tridentada no ápice, apresentando 4 ou 5 nervuras paralelas; flores ocasionalmente acompanhadas de um estilete filiforme e um estigma bífido; ovário de coloração pardo-amarelada a pardo-alaranjada; frutos, quando presentes, aquênios curvos, naviculares, com o dorso coberto de espinhos curtos e de coloração pardo-esverdeada. Flores tubulosas hermafroditas, escassas, com corola de aproximadamente 5 mm de comprimento, pentalobuladas, de coloração amarela, vermelho-alaranjada ou vermelho-violácea, tubo externamente piloso na porção inferior. Pappus ausente.

B. Descrição microscópica

Em material diafanizado, em vista frontal, a epiderme da corola ligulada mostra cutícula estriada sobre células retangulares e alongadas de contorno levemente sinuoso, ausência de estômatos na face superior (adaxial) e presença de escassos estômatos anomocíticos na face inferior (abaxial). Na região basal da face inferior (abaxial) ocorrem tricomas tectores longos, multicelulares, bisseriados, cônicos, de ápice arredondado e tricomas glandulares multicelulares, de pedicelo unisseriado, com 3 a 5 células, ou bisseriado, com 3 ou 4 células em cada fileira, ambos com cabeça ovalada, multicelular, geralmente bisseriada. No parênquima, por transparência, são visíveis prismas e pequenos aglomerados de cristais e numerosas gotas de óleo de coloração amarelo-alaranjada a amarelo-clara. O parênquima da lígula é atravessado longitudinalmente por 4 ou 5 feixes vasculares, com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados e helicoidais. Junto às células parenquimáticas das corolas tubulosas são encontrados 5 feixes vasculares bifurcados abaixo da zona de soldadura das pétalas. No ovário ocorrem tricomas glandulares iguais aos das corolas liguladas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Examinar ao microscópio, utilizando solução de hidrato de cloral R. São características: coloração pardo-amarelada; fragmentos de corolas contendo gotas de óleo de coloração amarelo-clara, alguns com estômatos anomocíticos grandes, outros com prismas e drusas de oxalato de cálcio; tricomas glandulares com pedicelo unisseriado ou bisseriado (pluricelulares); grãos de pólen esféricos, de 40-45 µm de diâmetro, com exina fortemente equinada e com três poros germinativos; ocasionalmente podem ocorrer fragmentos dos estigmas com papilas curtas e bulbosas.

D. 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, ácido fórmico anidro e água(80:10:10).

Solução amostra: ferver, sob refluxo, 1 g da droga pulverizada com 10 mL de metanol durante 10 minutos e filtrar.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de rutina, 1 mg de ácido cafeico e 1 mg de ácido clorogênico em metanol, completar o volume para 10 mL utilizando o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça, deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com uma solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre por 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência azul intenso
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência azul claro
Rutina: zona de fluorescência marron-amarelada	Zona de fluorescência marron-amarelada Zona de fluorescência azul claro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10,0%.

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.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Flavonoides totais

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

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g de droga pulverizada (800 µm), e transferir para balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura em algodão para um balão volumétrico de 100 mL, retornar o resíduo da droga e o algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 20 mL de acetona. Colocar em refluxo, por 10 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, filtrar a solução para o balão volumétrico de 100 mL. Repetir a operação. Em seguida, completar o volume do balão volumétrico com acetona e homogeneizar. Em funil de separação, adicionar 20 mL dessa solução e 20 mL de água e, a seguir, extrair com 15 mL de acetato de etila. Repetir três vezes a extração, com porções de 10 mL de acetato de etila cada vez. Reunir as fases de acetato de etila e lavá-las em funil de separação, com duas porções de 50 mL de água. Transferir a fase de acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em metanol. Diluir em balão volumétrico de 25 mL com solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, em cubeta de 1 cm, após exatamente 30 minutos, utilizando *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 1,25}{(m - \text{PD})}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra; e

PD = perda por dessecação % (p/p).

Alternativamente, realizar os cálculos considerando $A(1\%, 1\text{cm}) = 500$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

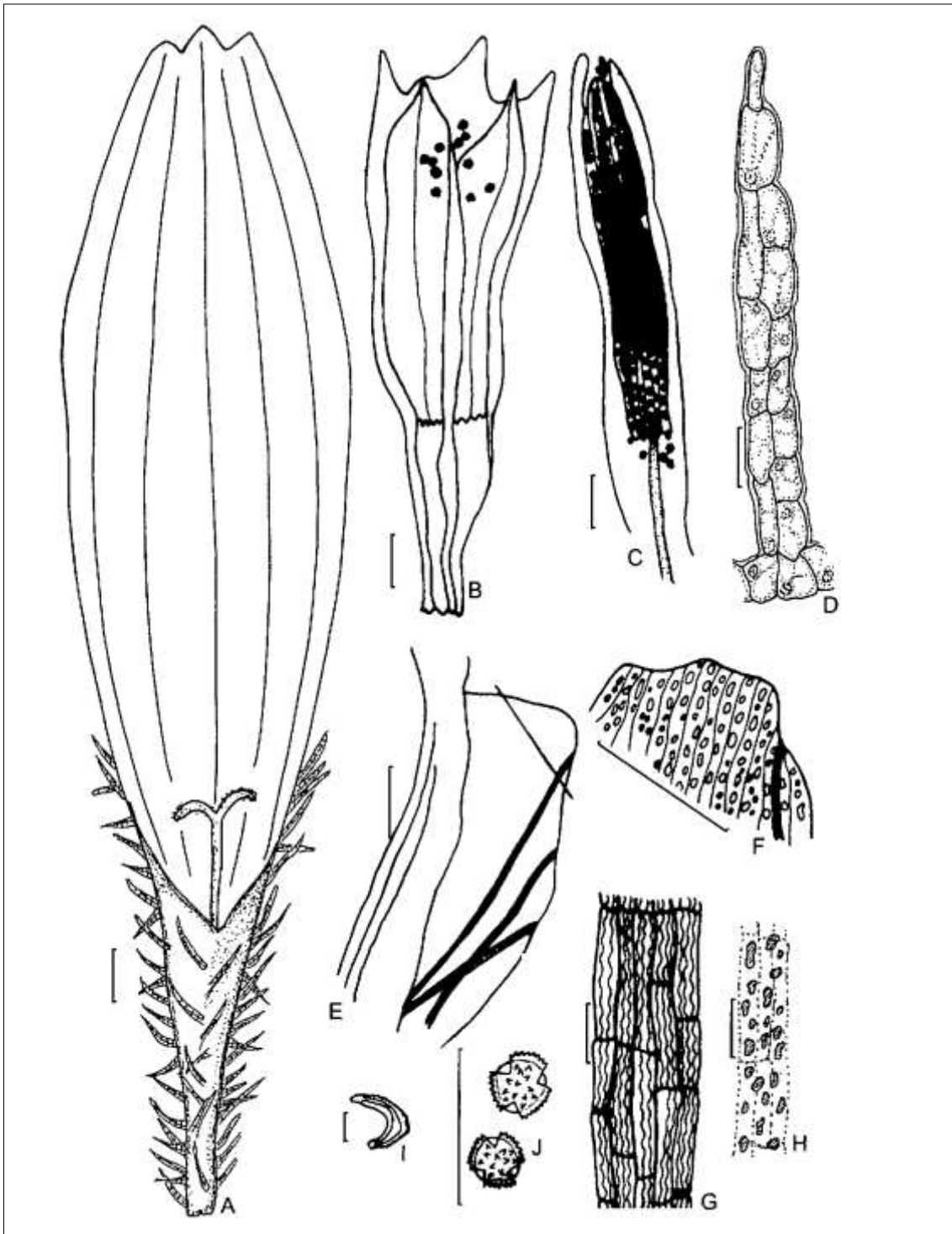


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Calendula officinalis* L.

As escalas correspondem em A a 1 mm; em B e C a 0,5 mm; em D a H a 100 μ m e em I a 1 mm.

A - flor pistilada ligulada. **B** - flor tubulosa do disco. **C** - anteras da flor tubulosa, com grãos de pólen. **D** - tricoma multicelular bisseriado do tubo da corola da flor ligulada. **E** - fragmento da lígula. **F** - detalhe da extremidade do fragmento da lígula como mostrado em E, com gotas de óleo no parênquima. **G** - fragmento de epiderme da lígula com cutícula estriada. **H** - fragmento de parênquima da lígula contendo gotas de óleo. **I** - aspecto do fruto. **J** - grãos de pólen tricolpados.