

MACELA
Achyroclines flos

Achyrocline satureioides (Lam.) DC. –
ASTERACEAE

A droga vegetal consiste das sumidades floridas secas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. É permitida a presença de pedúnculos e pedicelos das inflorescências, em um comprimento de até 3 cm e correspondendo a um valor não maior do que 1% do peso seco do conjunto. A droga deve conter, no mínimo, 0,4% de óleo essencial e, no mínimo 1,7% de flavonóides totais calculados como quercetina (C₁₅H₁₀O₇). E, no mínimo, 0,14 % de quercetina e 0,07 % de luteolina.

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Gnaphalium satureioides Lam.

SINONÍMIA VULGAR

Marcela, macela-do-campo.

CARACTERES ORGANOLÉPTICOS

Cor amarelo ouro, odor aromático e agradável, sabor levemente amargo. A cor das inflorescências secas pode variar, não correspondendo a estágios de maturação.

DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

A droga, constituída pelos ramos com inflorescências, deve estar acompanhada de alguns ramos superiores não alados, para comprovar a identidade da espécie. Flores reunidas em capítulos agrupados em glomérulos, sendo estes por sua vez organizados em cimas paniculiformes. Cada capítulo apresenta 4 a 8 flores dimorfas, protegidas por um involucrio subcilíndrico, de 0,40 cm a 0,60 cm de altura, formado por 9 a 14 brácteas involucrais imbricadas, amarelas, amareladas, amarelo-palha, amarelo-pálido a esverdeadas, ou ainda amarelo-douradas, amarelo-pardo a amarelo-avermelhadas. As brácteas involucrais são escariosas, hialinas, engrossadas na metade inferior, ao longo da nervura mediana, e estão dispostas em 3 ou 4 séries, sendo as séries exterior-

res gradualmente menores. Cada bráctea apresenta forma navicular, ápice acuminado e base truncada e mede aproximadamente 0,10 cm de largura. As brácteas mais internas são lanceolado-agudas, medindo 0,30 cm a 0,70 cm de comprimento e apresentando tricomas glandulares apenas na porção basal da face abaxial. As demais brácteas são oblongas ou agudas, sendo que as medianas medem 0,35 cm a 0,45 cm de comprimento e as mais externas 0,25 cm a 0,30 cm de comprimento, apresentando ambas tricomas simples, lanosos, com 0,20 cm a 0,30 cm de comprimento e alguns tricomas glandulares na porção basal da face abaxial. O receptáculo é plano, alveolado, sem páleas. As flores marginais do capítulo, em número de 3 a 6, são pistiladas, com corola de 0,30 cm a 0,45 cm de comprimento, filiforme, às vezes dilatada na base, dentada ou partida no ápice, com alguns poucos tricomas glandulares na porção apical abaxial. O estilete é filiforme, bifido, glabro, dilatado próximo à base, com ramos estigmáticos geralmente exsertos na maturação, de ápice truncado, papiloso e com uma coroa de tricomas na porção apical. O ovário é infero, bicarpelar e unilocular, com um único rudimento seminal, glabro, ovalado, levemente comprimido. O papus é unisseriado, com cerca de 20 cerdas brancas, ásperas, livres entre si na base, que alcançam quase a mesma altura da corola, raramente mais. As flores do disco são em número de 1 a 3, hermafroditas, com corola tubulosa, estreita, de 0,30 cm a 0,45 cm de comprimento, de tubo ligeiramente dilatado na base e limbo pentadactilo ou pentalobulado, dentes ou lóbulos com tricomas glandulares na face abaxial. Androceu com 5 estames, epipétalos, inseridos na metade inferior da corola, com anteras sinânteras, de 0,15 cm a 0,20 cm de comprimento, com deiscência longitudinal e introrsa, sagitadas na base, com cauda laciniada; conetivo prolongado em um apêndice apical triangular, levemente obtuso, hialino. O ovário, o estilete e o papus são semelhantes aos das flores apenas pistiladas. Fruto do tipo aquênio, pardo, de 0,07 cm a 0,08 cm de comprimento, elipsoidal a obovado, levemente comprimido, glabro, de superfície papilosa.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

A face abaxial das brácteas apresenta epiderme formada por células alongadas, de contorno retan-

gular, com paredes ligeiramente sinuosas, lisas, com tricomas tectores pluricelulares e unisseriados apenas no seu terço inferior. Ocorrem ainda tricomas glandulares, formados por um pedicelo bi a trisseriado, com 3 ou 4 camadas de células e por duas células terminais ovalado-alongadas, bem maiores do que as anteriores. Os tricomas glandulares das brácteas medem 60 μm a 100 μm de comprimento total e sua cabeça possui diâmetro de 30 μm a 40 μm . As brácteas, em secção transversal, mostram poucas camadas de células junto à base, chegando a apenas duas camadas na porção mais apical. Em secção transversal, estas células são arredondadas, de paredes ligeiramente espessadas. O papus é constituído por cerdas longas, formadas por células alongadas, hialinas, de paredes finas, muitas delas projetadas lateralmente. A face abaxial da corola apresenta epiderme formada por células alongadas, de contorno poligonal. Cinco feixes vasculares percorrem longitudinalmente seu tubo. Em secção transversal, a corola apresenta epiderme de células retangulares e um parênquima formado por 2 ou 3 camadas de células de contorno arredondado e de paredes um pouco espessadas. As lacínias são cobertas abaxialmente por tricomas glandulares, os quais medem de 60 μm a 90 μm de comprimento total e 30 μm a 40 μm de diâmetro na cabeça. O androceu, em secção transversal, apresenta as anteras recobertas abaxialmente por 2 camadas de células bem distintas. A mais externa corresponde à epiderme, com células pequenas, arredondadas e de paredes espessas; a camada subjacente é constituída de uma fileira de células grandes, ovalado-alongadas no sentido radial e também com paredes espessas. Abaixo, ocorrem os sacos polínicos, formados por um parênquima de células pequenas e de paredes finas. Junto a estas encontra-se a camada mecânica, que consta de células arredondadas, com espessamento nas paredes laterais e basal. No momento da deiscência da antera, os sacos polínicos formam uma só loja. Os grãos de pólen são esferoidais e tricolpados, medindo de 17 μm a 35 μm de diâmetro e com exina espinhosa. O ovário é recoberto por uma camada de células epidérmicas de contorno poligonal, com algumas expansões na parede periclinal externa. Abaixo ocorre um tecido parenquimático constituído por várias camadas de células, que após o completo desenvolvimento, reduzem-se a 3 ou 4. Internamente, encontra-se apenas um rudimento seminal anátropo, preenchendo totalmente a cavidade ovariana. O embrião, quando desenvolvido, é formado quase que exclusivamente pelos cotilédones, restando apenas algumas células do endosperma, aderidas ao tegumento da semente. O estilete, em secção transversal, é circular, mostrando, próximo à base, uma expansão globosa, consti-

tuída por numerosas células arredondadas, de paredes finas. Externamente ocorre uma camada de células pequenas, regulares em forma e em tamanho. Internamente existe um parênquima de células de paredes muito delgadas, em cuja parte central ocorre um feixe vascular. O fruto, quando maduro, apresenta um pericarpo formado por 3 ou 4 camadas de células. O fruto é castanho-claro ou pardo, devido à coloração da primeira camada de células abaixo da epiderme. As demais camadas de células não possuem coloração e encontram-se aderidas ao tegumento da semente. Este é suberificado e adjacente ao resto do endosperma, que ocorre apenas na região superior e inferior da semente. Os cotilédones são pouco espessos, com face longitudinal plana e dorsal convexa.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarela ou uma variante de amarelo; brácteas involucrias ou porções das mesmas como descrito acima; flores inteiras ou suas porções, conforme descrição acima; estames ou partes destes com anteras sagitadas na base e cauda laciniada; estilete bifido de base dilatada; cerdas do papus com projeções laterais; aquênios pardos, de 0,07 cm a 0,08 cm de comprimento, elipsoidais a obovados, glabros, de superfície papilosa.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (V.2.17.1), utilizando cromatoplaça de celulose como fase estacionária e clorofórmio-ácido acético glacial-água (50:45:5) como fase móvel. Aplicar, separadamente, em forma de banda, 5-10 μl da solução amostra e 2-3 μl da solução de referência, preparados como descrito a seguir.

Solução amostra: aquecer sob refluxo 10 g da droga em 100 ml de água destilada, durante uma hora. Transferir o extrato para funil de decantação e extrair. Filtrar o extrato obtido, prensando e lavando o marco resultante com água aquecida. Extrair duas vezes com 50 ml, mais quatro vezes com 25 ml de acetato de etila. Lavar duas vezes o extrato obtido com 50 ml de água. Reunir as fases orgânicas, secar com sulfato de sódio anidro. Lavar o papel de filtro e o sulfato de sódio com acetato de etila. Evaporar em evaporador rotatório. Retomar o resíduo em 15 ml de metanol e proceder a análise cromatográfica.

Solução de referência: dissolver 1 mg de cada um dos padrões (quercetina, 3-O-metil-quercetina, luteolina e ácido caféico) em 100 µl de metanol, separadamente.

Desenvolver o cromatograma em percurso de aproximadamente 10 cm. Secar ao ar, à temperatura ambiente. Examinar a cromatoplaça sob luz ultravioleta (354 nm). Nebulizar com solução etanólica a 1 % (p/V) de difenilborato de amino-etanol (Reagente Natural A). Adicionalmente nebulizar com solução etanólica a 5 % (p/V) de polietilenoglicol 400. O cromatograma deverá apresentar uma mancha de fluorescência amarelo-ouro na mesma altura que a obtida com a solução de referência (Rf aproximadamente 0,40) correspondente à quercetina, outra de Rf cerca de 0,60 (luteolina) de cor marrom-claro, uma mancha de Rf aproximadamente 0,80 de coloração marrom-claro atribuída à 3-O-metil-quercetina e uma quarta pouco acima de fluorescência azul (Rf aproximadamente 0,90) relativa ao ácido caféico.

ENSAIOS DE PUREZA

Matéria estranha (V.4.2.2). No máximo 2%.

Determinação de água (V.4.2.3). No máximo 10%.

Cinzas totais (V.4.2.4). No máximo 8%.

DOSEAMENTO

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos essenciais* (V.4.2.6.). Utilizar um balão de 2 000 ml contendo quantidade de água suficiente para encobrir a droga vegetal. Utilizar 30 g de flores não contundidas e destilar por 5 horas. Após extração, proceder imediatamente à determinação do óleo essencial.

B. Determinar o teor de *Flavonóides totais*. Pesar exatamente cerca de 0,400 g da droga pulverizada (800 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 100 ml. Acrescentar 1 ml de uma solução de hexametilenotetramina a 0,5 % (p/V), 20 ml de acetona e 2 ml de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, por 30 minutos. Filtrar a mistura para balão volumétrico de 100 ml. Lavar o resíduo da droga e o algodão em balão de fundo redondo, com duas porções de 20 ml de acetona, aquecendo a fervura sob refluxo, por 10 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar as soluções para o balão volumétrico, completando-se o volume com acetona. Em funil de separação, tratar 20 ml da solução com 20 ml de água e após extrair com 15 ml

de acetato de etila, repetindo-se por três vezes, com porções de 10 ml de acetato de etila. Reunir as fases de acetato de etila e lavá-las em funil de separação, com duas porções de 50 ml de água, transferindo a seguir para balão volumétrico de 50 ml, completando-se o volume com acetato de etila (solução-mãe SM). Pipetar 10 ml desta solução, adicionar 1 ml do reagente de cloreto de alumínio, diluindo-se em balão volumétrico de 25 ml com solução metanólica de ácido acético a 5% (V/V). Preparar o branco diluindo 10 ml da SM para 25 ml em balão volumétrico com solução metanólica de ácido acético a 5% (V/V). Após 30 minutos, medir a absorvância da solução a 425 nm, em cubeta de 1 cm, utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular a porcentagem de flavonóides totais segundo a fórmula:

$$TFT = \frac{A \times 62.500}{500 \times m \times (100 - PD)} \quad (\% ; p/p)$$

Em que

A = absorvância;

m = massa da droga (g);

PD = perda por dessecação (%; p/p)

O resultado é fornecido em porcentual (p/p) de flavonóides totais calculados como quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$).

C. Determinar o teor de *Quercetina e luteolina*. Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Cerca de 18 g da droga seca e moída (800 µm), exatamente pesados, é extraída previamente, em aparelho tipo Soxhlet, com 300 ml de n-hexano, durante 3 horas. O extrato é desprezado e o marco extraído com 300 ml de acetato de etila, durante 3 horas. O extrato obtido é evaporado à secura em evaporador rotatório e o resíduo retornado, quantitativamente, em metanol. A solução é transferida para balão volumétrico, ajustando-se o volume de 10 ml com o metanol. Uma alíquota de 1 ml desta solução é diluída para 50 ml, completando-se o volume com o solvente. Desta solução, uma alíquota de 4 ml é diluída volumetricamente a 20 ml utilizando como solvente uma mistura de metanol: água na proporção de 53:47. As amostras são filtradas através de filtro de membrana fluoreto de polivinilideno (0,45 µm de diâmetro nominal de poro) e injetadas no cromatógrafo. As extrações e as injeções são realizadas em triplicata e o resultado é expresso pela média das determinações em gramas de quercetina e luteolina por 100 gramas da droga (%; p/p).

Curva de calibração: cerca de 5 mg das substâncias referência, quercetina e luteolina, são exatamente pesadas e dissolvidas em metanol. A solução, com os

dois flavonóides, é transferida para balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com metanol (Solução-Mãe). Alíquotas da Solução-Mãe são diluídas com uma mistura metanol:água (53:47) obtendo-se soluções contendo quercetina e luteolina, nas seguintes concentrações: 1,5; 2,5; 5; 7,5; 10 µg/ml. As soluções são filtradas através de filtro de membrana de fluoreto de polivinilideno (0,45 µm de diâmetro nominal de poro) e injetadas no cromatógrafo.

Condições cromatográficas: a análise cromatográfica é realizada em cromatógrafo equipado com detector ultravioleta. As condições cromatográficas empregadas são: pré-coluna contendo sílica octadecilsililizada, 10 µm; coluna em aço inoxidável (250 mm

x 4 mm d.i.) empacotada com sílica octadecilsililizada, 5 µm. A fase móvel é constituída de mistura de metanol:solução de ácido fosfórico 1 % (m/V) na proporção de 53:47; fluxo de 0,6 ml/min; detecção em 362 nm. A fase móvel é previamente filtrada através de membrana de fluoreto do polivinilideno 0,45 µm de diâmetro de poro.

Determinar a área do pico de quercetina e luteolina utilizando a *Curva de Calibração*.

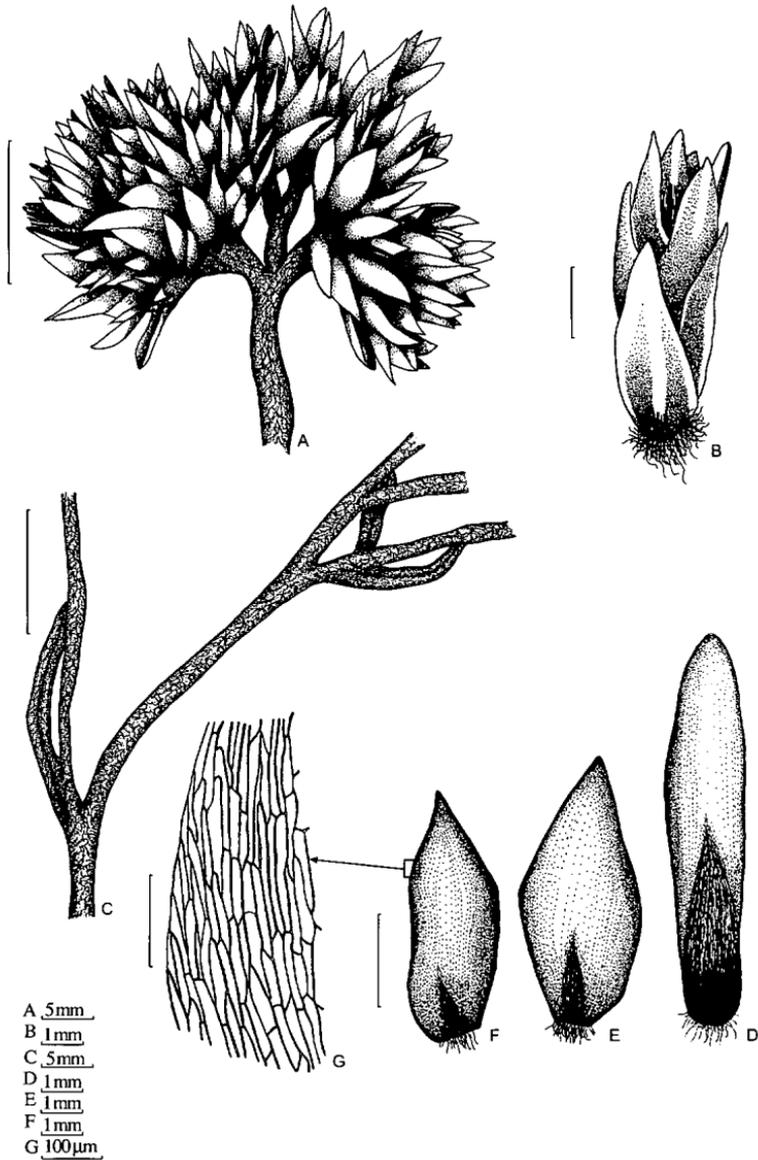
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, ao abrigo da luz e do calor, por um período não superior a um ano.

XII.2. REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

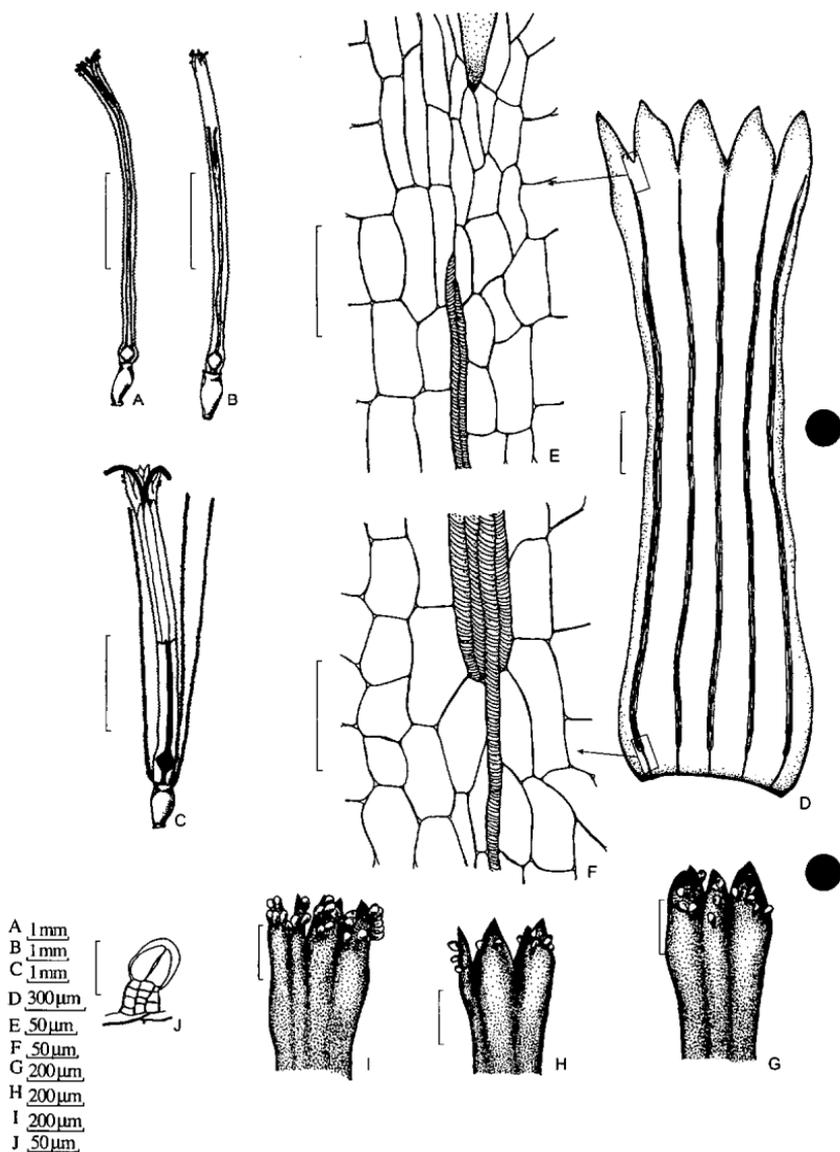
Reagente de Cloreto de alumínio

Dissolver 1 g de cloreto de alumínio com solução metanólica de ácido acético 5%(V/V), em balão volumétrico de 500 ml. Complete o volume.



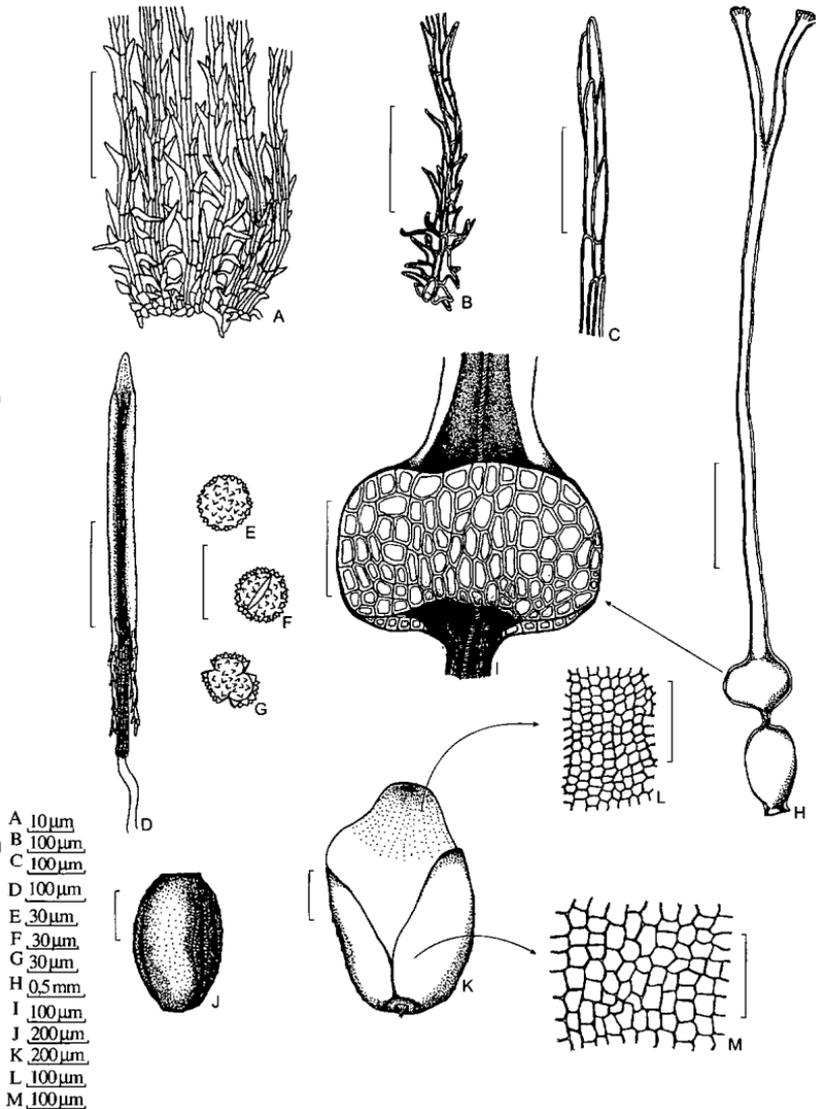
Achyrocline satuireioides (Lam.) DC.

Figura 1: *Achyrocline satuireioides* (Lam.) DC. — A. inflorescência; B. capítulo; C. detalhe do pedicelo piloso; D. bráctea involucrel da 3ª série do capítulo; E. bráctea involucrel da 2ª série do capítulo; F. bráctea involucrel da 1ª série do capítulo; G. detalhe do parênquima da porção indicada em F. As régua correspondem: em A e C a 5 mm; em B, D, E F a 1 mm; em G a 100 μm.



Achyrocline satureioides (Lam.) DC.

Figura 2: *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. — A e B, flor pistilada; C, flor perfeita com cerdas do papus; D, aspecto geral da nervação da corola; E, detalhe da nervação na porção distal da corola, indicada em D; F, detalhe da nervação na porção proximal da corola, indicada em D; G, H e I, porção distal da corola tubulosa, mostrando a variabilidade de número e tamanho dos tricomas glandulares; J, tricoma glandular de pedicelo trisseriado com duas células terminais. As régua correspondem: em A, B e C a 1mm; em D a 300 µm; em E, F e J a 50 µm; em G, H e I a 200 µm.



Achyrocline satureioides (Lam.) DC.

Figura 3: *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. — A. detalhe da base do papus; B. base da cerda; C. ápice da cerda; D. estame; E, F e G - grãos de pólen; E. aspecto geral; F. vista equatorial do colpo; G. vista polar do grão de pólen tricolpado; H. gineceu; I. detalhe do gineceu na região indicada em H; J. ovário; K. fruto; L. detalhe do tegumento na porção indicada em K; M. detalhe pericarpo na porção indicada em K. As régua correspondem em A a 10 μ m; em B, C, D, I, L e M a 100 μ m; em E, F e G a 30 μ m; em H a 0,5 mm; em J e K a 200 μ m.