

## CALÊNDULA, tintura

### *Calendulae tinctura*

A tintura é obtida a partir de flores secas de *Calendula officinalis* L., contendo, no mínimo, 0,04% de flavonoides totais, expressos como hiperosídeo (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>, 464,38).

#### PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) como líquido extrator.

#### CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

#### IDENTIFICAÇÃO

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

*Fase estacionária* sílica-gel F<sub>254</sub> (0,25 mm).

*Fase móvel*: acetato de etila, ácido fórmico anidro e água (80:10:10).

*Solução amostra*: secar 1 mL da tintura até resíduo, em banho maria, em temperatura máxima de 60 °C. Adicionar 2 mL de álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Solução referência (1)*: dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de rutina em álcool metílico, para obter a concentração de 250 µg/mL.

*Solução referência (2)*: dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de ácido clorogênico em álcool metílico, para obter a concentração de 100 µg/mL.

*Solução referência (3)*: dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de ácido cafeico em álcool metílico, para obter a concentração de 100 µg/mL.

*Procedimento*: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução referência (3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em álcool metílico, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool etílico, aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 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)*, a *Solução referência (3)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

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

## TESTES

**Densidade relativa (5.2.5).** 0,9122 a 0,9500.

**Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II.** 60% (v/v) a 64% (v/v).

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

**Resíduo seco (5.4.2.2.2).** No mínimo 7,0% (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

### Flavonoides totais

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

*Solução estoque:* em um balão de fundo redondo, adicionar 8,0 mL da tintura de calêndula. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de metenamina 5 g/L, 20 mL de acetona e 7 mL de ácido clorídrico. A seguir, refluxar em banho-maria durante 30 minutos. Filtrar em papel de filtro, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetona e homogeneizar. Transferir 20 mL da solução para um funil de separação e adicionar 20 mL de água. Extrair com uma quantidade de 15 mL e, a seguir, com três quantidades de 10 mL de acetato de etila. Após o processo de extração reunir as fases de acetato de etila, transferir para outro funil de separação e lavar com duas quantidades

de 50 mL de água. Transferir a fase acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

*Solução amostra*: transferir 10 mL da *Solução estoque* para um balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL da solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em solução de ácido acético a 5% (v/v) em álcool metílico. Completar o volume do balão volumétrico de 25 mL com a solução de ácido acético a 5% (v/v) em álcool metílico e homogeneizar.

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

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

$$TF = \frac{A \times 1,25}{m}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da tintura utilizada, determinada a partir da densidade.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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