

ARNICA, flor

Arnicae flos

A droga vegetal consiste de inflorescências secas, inteiras ou parcialmente fragmentadas de *Arnica montana* L., contendo, no mínimo, 0,4% (p/p) de sesquiterpenos lactônicos totais expressos em tiglato de diidrohelenalina (C₂₀H₂₆O₅, 346,42).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As flores estão agrupadas em inflorescências do tipo capítulo heteromorfo, de coloração amarelo-alaranjada. O capítulo é constituído por um pedúnculo, um receptáculo, flores radiais liguladas e flores do disco tubulosas. O capítulo fechado mede cerca de 2 cm de diâmetro e quando com as flores radiais distendidas, mede de 5 a 6 cm de diâmetro. O pedúnculo, quando presente, mede de 2 a 3 cm de comprimento. O receptáculo, quando privado das flores, tem um diâmetro entre 6 e 10 mm e uma profundidade de 15 mm e é levemente convexo, alveolado e recoberto de tricomas brancos, curtos e duros. O receptáculo é envolvido por 18 a 24 brácteas ovalado-lanceoladas. Cada bráctea involucrial apresenta ápice agudo e bordo inteiro, ciliado, medindo de 8 a 10 mm, mais raramente até 15 mm de comprimento; as brácteas internas têm coloração verde-parda e são mais curtas; as brácteas externas são verdes. As flores liguladas radiais são zigomorfas e femininas, em número de 14 a 20, e medem de 20 a 30 mm de comprimento. Cada flor ligulada apresenta um cálice reduzido, denominado papus, que é formado por uma série de cerdas esbranquiçado-amareladas grossas, rígidas, medindo de 4 a 8 mm de comprimento; o limbo da corola é oblongo, de coloração amarelo-alaranjada e apresenta de sete a 10 nervuras paralelas, culminando em três lóbulos pequenos e desiguais; os estames não são completamente desenvolvidos e apresentam anteras livres e o ovário é ínfero, estreito, de coloração parda, medindo de 4 a 5 mm de comprimento. As flores tubulosas do disco são actinomorfas e perfeitas, em número muito maior do que as flores liguladas e medem até 15 mm de comprimento; cada uma apresenta um cálice reduzido, denominado papus, que é formado por uma série de cerdas esbranquiçado-amareladas rígidas, com até 8 mm de comprimento; a corola é curta, de coloração amarelo-alaranjada, mede cerca de 8 mm de comprimento e tem cinco lobos triangulares reflexos; os estames são cinco, férteis e estão soldados pelas anteras formando um tubo; as tecas são elipsoidais e o conetivo prolonga-se numa escama triangular e o ovário é ínfero, estreito, de coloração parda, medindo de 4 a 8 mm de comprimento e apresenta quatro ou cinco arestas longitudinais visíveis. Os frutos, quando presentes, são aquênios pardos, coroados ou não pelo papus.

B. Descrição microscópica

As brácteas involucriais e flores apresentam em suas faces abaxiais, ou raramente nas adaxiais, tricomas tectores e glandulares. Os tricomas tectores são unicelulares ou bicelulares, com célula apical mais longa, aguda, ou ainda pluricelulares, unisseriados, com três a 10 células, das quais uma ou algumas células distais são mais longas, sendo as células proximais às vezes de paredes espessas. Os tricomas glandulares apresentam pedicelo pluricelular, uni ou bisseriado, com cabeça glandular globosa, ovoide ou claviforme, unisseriada ou bisseriada, unicelular ou pluricelular. Brácteas involucriais e flores apresentam em suas faces abaxiais estômatos anomocíticos. As brácteas involucriais, em vista frontal, apresentam a face abaxial da epiderme com células de paredes anticlinais onduladas e a face adaxial com células de paredes anticlinais poligonais a pouco onduladas e, em secção transversal, um parênquima fundamental frouxo, com feixes vasculares correspondentes às nervuras de cada bráctea. As cerdas do cálice, na forma de papus, são compostas cada uma por duas a três fileiras de células alongadas, agudas na porção distal, e por um maior número de fileiras

de células na porção proximal. A corola da flor ligulada, em vista frontal, apresenta epiderme da face adaxial com células de paredes anticlinais poligonais, papilosas, sendo visíveis estrias epicuticulares e gotas lipídicas; a epiderme da face abaxial apresenta células de paredes anticlinais alongadas, quase retas, mas visivelmente onduladas na porção distal. A corola da flor tubulosa, em vista frontal, apresenta epiderme com células de paredes anticlinais levemente onduladas nas duas faces da porção distal das pétalas, e mais poligonais na porção mediana, as células da região do tubo têm paredes anticlinais poligonais; na porção distal e triangular de cada pétala ocorrem papilas digitiformes; gotas lipídicas podem estar presentes. As anteras, em secção transversal, mostram um endotécio espessado nas paredes laterais. Os grãos de pólen são triporados, arredondados, com exina equinada, e medem cerca de 30 µm. O ovário, em vista frontal, apresenta epiderme com células alongadas, com placas reticuladas de coloração escura, pela presença de fitomelanina. Os ramos estigmáticos do estilete apresentam em sua porção distal tricomas unicelulares cônicos e pontiagudos e sob o tapete formado por estes tricomas observam-se papilas arredondadas. O fruto, quando presente, tem as mesmas características epidérmicas do ovário, principalmente os tricomas glandulares e as placas de fitomelanina evidentes.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Examinar ao microscópio utilizando solução de hidrato de cloral SR. São características: porções de epiderme das brácteas involucrais com estômatos e tricomas como os descritos, mais abundantes na face abaxial; tricomas ou seus fragmentos, conforme descritos; fragmentos de corolas liguladas, com tricomas conforme descritos; fragmentos da porção distal da corola ligulada cobertos de papilas arredondadas; fragmentos de corolas tubulosas com tricomas conforme descritos; fragmentos da porção distal da corola tubulosa cobertos de papilas digitiformes; fragmentos de ovário com os dois tipos de tricomas característicos, como descritos e às vezes com placas de fitomelanina; porções do papus ou fragmentos de cerdas do papus conforme descritos; grãos de pólen triporados, arredondados, com exina equinada.

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, metil-etil-cetona, ácido fórmico anidro e água (50:30:10:10).

Solução amostra: a 2 g da amostra pulverizada, adicionar 10 mL de álcool metílico e aquecer, em banho-maria, a 60 °C, sob agitação, durante cinco minutos. Resfriar a solução e, em seguida, filtrar.

Solução referência: dissolver 2 mg de ácido cafeico, 2 mg de ácido clorogênico e 5 mg de rutina em álcool metílico e ajustar o volume para 30 mL com álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de bandas de 20 mm, a 1 cm de distância, 15 µL da *Solução amostra* e 15 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, a seguir, com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico e aquecer 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* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem. O cromatograma obtido com a *Solução amostra* não deve apresentar zona de coloração amarelo-alaranjada correspondente à rutina e, abaixo desta, não deve ser observada outra zona.

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul-clara	Zona de fluorescência azul-esverdeada Zona de fluorescência castanho-amarelada a amarelo-alaranjado Zona de fluorescência castanho-amarelada a amarelo-alaranjado Zona de fluorescência castanho-amarelada a amarelo-alaranjado Zona de fluorescência castanho-amarelada a amarelo-alaranjado
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azulada	Zona de fluorescência azulada
Rutina: zona de fluorescência amarelo-alaranjada	Zona de fluorescência azul-esverdeada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 10,0%.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 5,0% de caules com um diâmetro superior a 5 mm.

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

Sesquiterpenos lactônicos totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 225 nm; coluna de 0,12 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Eluente (A): água.

Eluente (B): álcool metílico.

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0-3	62	38	isocrática
3-20	62 → 55	38 → 45	gradiente linear
20-30	55	45	isocrática
30-55	55 → 45	45 → 55	gradiente linear
55-57	45 → 0	55 → 100	gradiente linear
57-70	0 → 62	100 → 38	gradiente linear
70-90	62	38	isocrática

Solução de padrão interno: dissolver, imediatamente antes do uso, 0,01 g de santonina exatamente pesado em 10 mL de álcool metílico.

Solução amostra: em balão de fundo redondo de 250 mL, introduzir 1 g da amostra pulverizada. Adicionar 50 mL de uma mistura de volumes iguais de álcool metílico e água e aquecer, sob refluxo, em banho-maria entre 50 °C e 60 °C, durante 30 minutos agitando frequentemente. Deixar esfriar e em seguida, filtrar utilizando filtro de papel. Transferir o filtro cortado em pedaços grandes e o resíduo para o balão de fundo redondo, adicionar 50 mL de uma mistura de volumes iguais de álcool metílico e água e aquecer, sob refluxo, em banho-maria entre 50 °C e 60 °C, durante 30 minutos, agitando frequentemente. Repetir a operação duas vezes. Reunir os filtrados, adicionar 3 mL da *Solução de padrão interno* e evaporar, a pressão reduzida, até a obtenção de um volume de 18 mL. Lavar o balão de fundo redondo com água e completar 20 mL com as águas de lavagem. Transferir a solução para uma coluna cromatográfica com cerca de 0,15 m de comprimento e cerca de 30 mm de diâmetro interno, contendo 15 g de sílica para cromatografia. Deixar em repouso durante 15 minutos e, a seguir, eluir com 200 mL de uma mistura de volumes iguais de acetato de etila e cloreto de metileno. Evaporar o eluato à secura, num balão de fundo redondo de 250 mL. Dissolver o resíduo em 10 mL de álcool metílico, adicionar 10 mL de água e, em seguida, 7 g de óxido de alumínio neutro. Agitar durante dois minutos, centrifugar durante 10 minutos a $6.000 \times g$ e filtrar utilizando filtro de papel. Evaporar à secura 10 mL do filtrado. Dissolver o resíduo em 3 mL de uma mistura de iguais volumes de álcool metílico e água e filtrar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar separadamente, 20 µL da *Solução de padrão interno* e 20 µL da *Solução amostra*. Calcular o teor de sesquiterpenos lactônicos totais, expressos em tiglato de helenalina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TSLT} = \frac{A_a \times C_r \times V \times 1,187}{A_r \times m_a \times 10}$$

em que,

TSLT = teor de sesquiterpenos lactônicos totais expressos em tiglato de helenalina % (p/p);

A_a = área total sob os picos correspondentes aos sesquiterpenos lactônicos que aparecem depois do pico da santonina na *Solução amostra*;

A_r = área sob o pico correspondente à santonina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

C_r = concentração da santonina na *Solução de padrão interno* em mg/mL, considerando a pureza da substância de referência;

V = volume em mililitros da *Solução de padrão interno* utilizado na *Solução amostra*;

1,187 = fator de correção entre o tiglato de diidrohelenalina e a santonina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

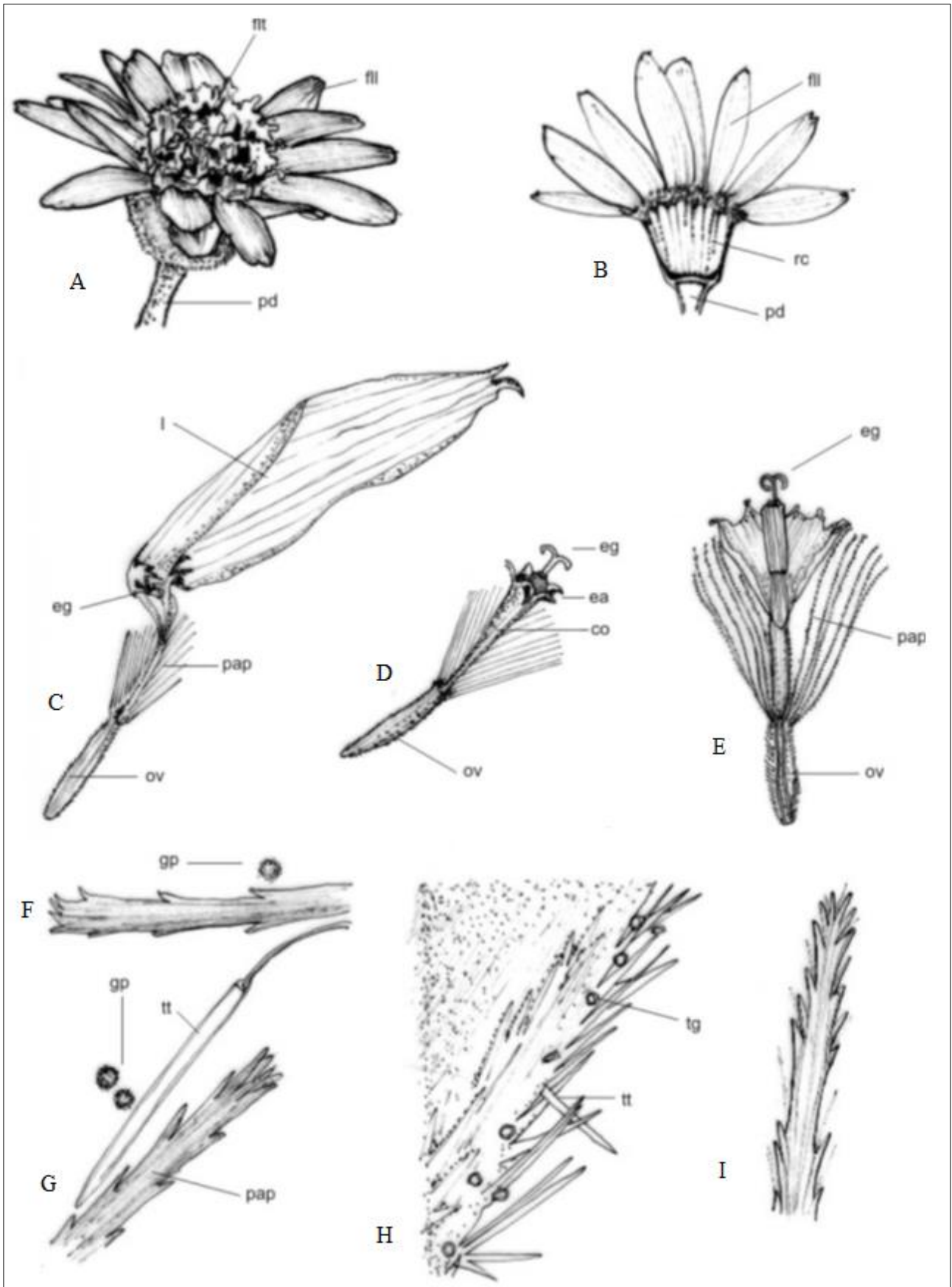


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Arnica montana* L.

A. capítulo floral; flor tubular (flt); flor ligulada (fl); pedúnculo (pd). B. capítulo floral com flores tubulosas retiradas, para observação do receptáculo; flor ligulada (fl); receptáculo (rc); pedúnculo (pd). C. flor ligulada; ovário (ov); papus

(pap); estigma bifido (eg); lígula (l). **D.** flor tubulosa; ovário (ov); estame com antera soldada (ea); estigma bifido (eg); corola (co). **E.** flor tubulosa; ovário (ov); papus (pap); estigma bifido (eg). **F.** detalhe de uma cerda do papus: grão de pólen (gp). **G.** detalhe de uma cerda do papus; grão de pólen (gp); papus (pap); tricoma tector (tt). **H.** superfície externa do ovário; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **I.** fragmento do papus.

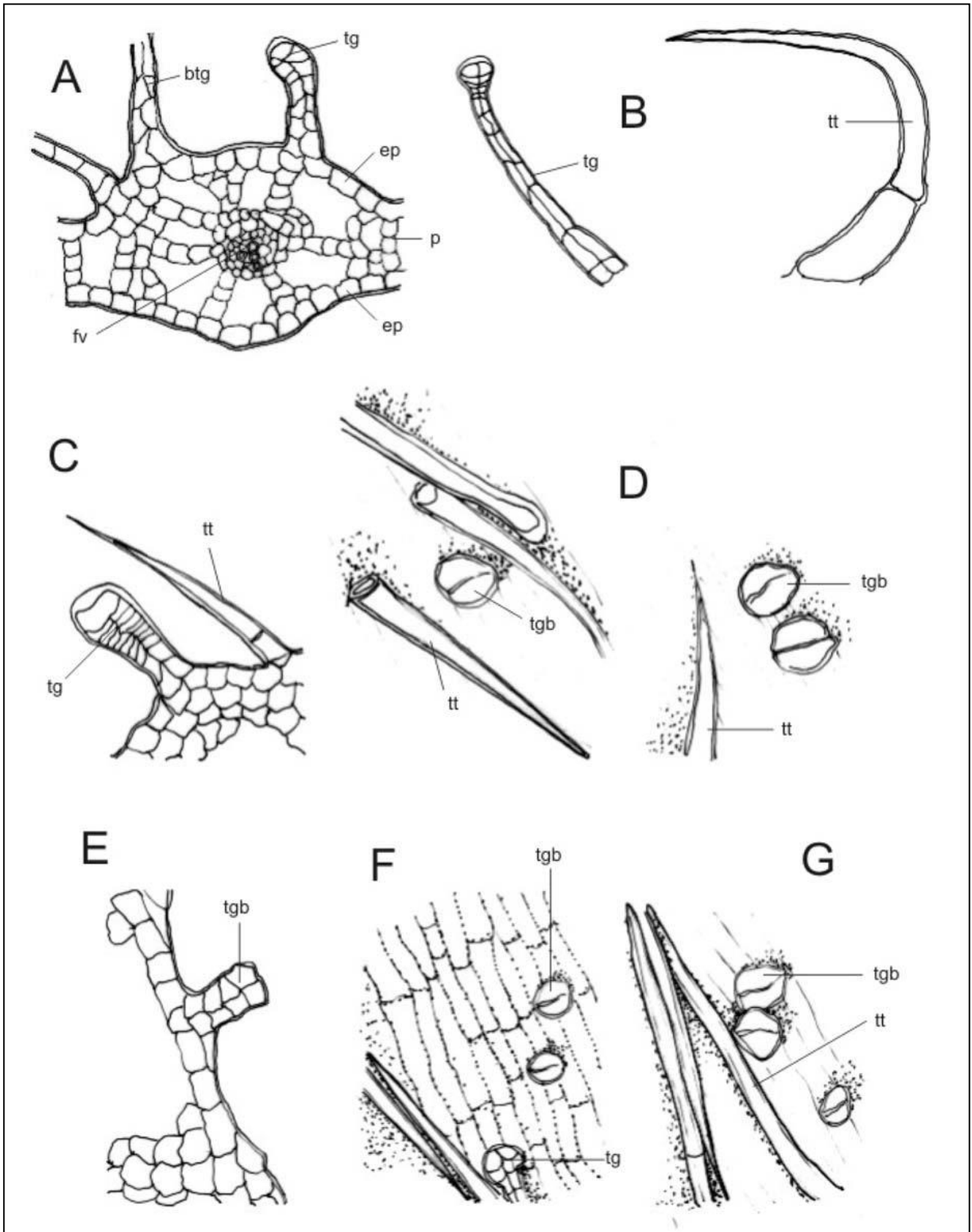


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Arnica montana* L.

A – corte transversal da bráctea: epiderme (ep); parênquima (p); feixe vascular (fv); tricoma glandular (tg); base do tricoma glandular (btg). **B** e **C** – detalhes dos tricomas glandular e tector: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** – superfície externa do ovário vista de cima: tricoma glandular com cabeça bicelular (tgb), com corpo bisseriado. **E** – aspectos dos tricomas glandulares. **F** e **G** – fragmento da epiderme inferior: tricoma glandular (tg); tricoma glandular com cabeça bicelular (tgb)