

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 ($C_{21}H_{20}O_{12}$, 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 quatro ou cinco nervuras paralelas; flores ocasionalmente acompanhadas de um estilete filiforme e um estigma bifido; 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. Papus 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 três a cinco células, ou bisseriado, com três ou quatro 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 quatro ou cinco feixes vasculares, com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados e helicoidais. Junto às células parenquimáticas das corolas tubulosas são encontrados cinco 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

A amostra satisfaz 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 a 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 álcool metílico 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 álcool metílico, 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 álcool metílico, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. Deixar a placa secar ao ar livre por 30 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.

<i>Parte superior da placa</i>	
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%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* 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) (5.2.11), 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 álcool metílico. Diluir em balão volumétrico de 25 mL com solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em álcool metílico 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 álcool metílico 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:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 625}{m \times 500}$$

em que,

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

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

625 = fator de diluição;

500 = coeficiente de absorção específica do hiperosídeo;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

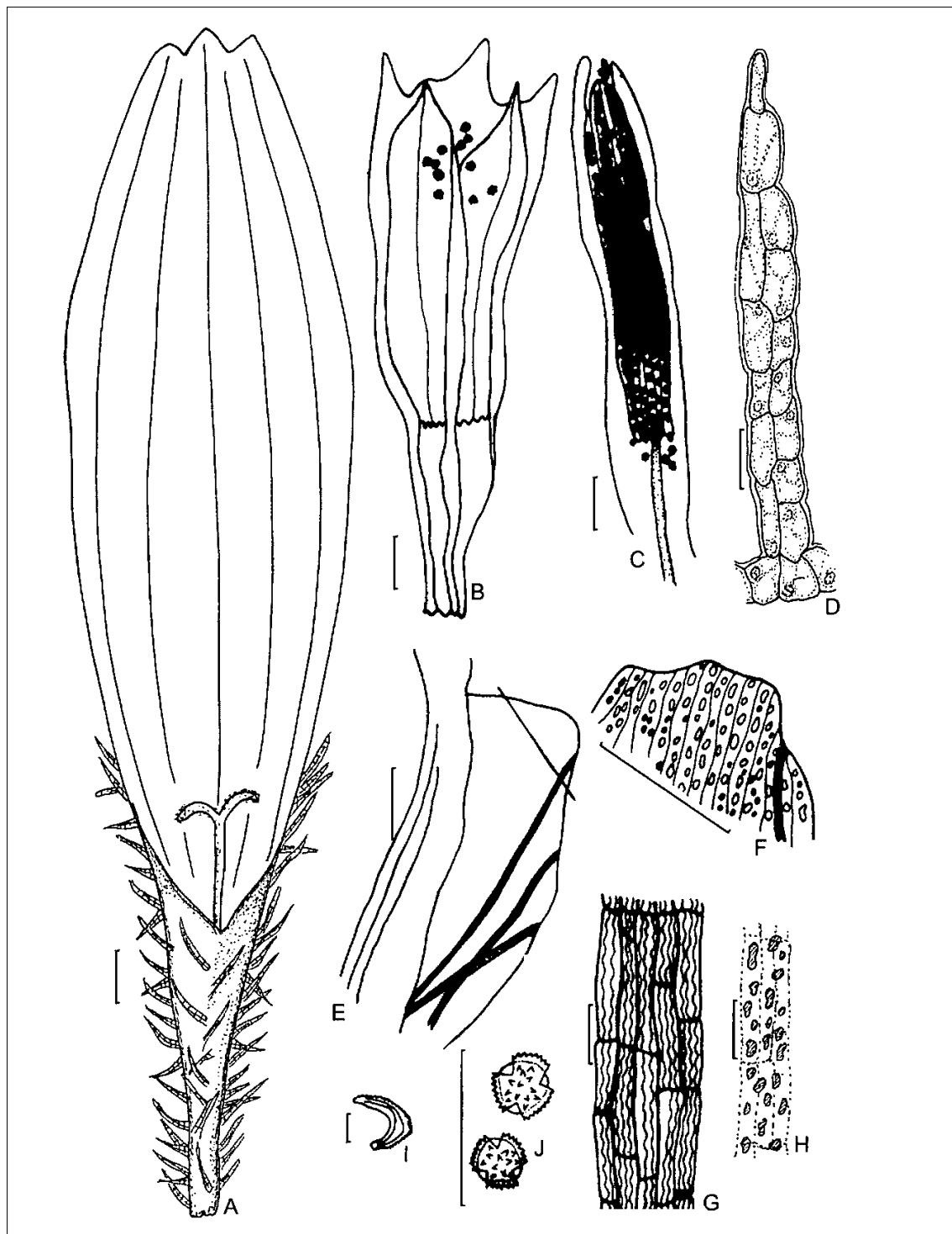


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Calendula officinalis* L.

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