

MACELA, flor
Achyroclines flos

A droga vegetal consiste de inflorescências secas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., contendo, no mínimo, 3,0% de flavonoides totais calculados como quercetina, no mínimo, 0,8% de quercetina (C₁₅H₁₀O₇, 302,24), e, no mínimo, 0,6% de 3-*O*-metilquercetina (C₁₆H₁₂O₇, 316,27).

CARACTERÍSTICAS

As inflorescências possuem coloração variando de amarelo-pálido à amarelo-ouro intenso e odor aromático característico.

IDENTIFICAÇÃO**A. Descrição macroscópica**

A droga é constituída de flores reunidas em capítulos agrupados em glomérulos, sendo estes por sua vez organizados em cimas paniculiformes. Cada capítulo apresenta quatro a oito flores dimorfas, protegidas por um involúcro subcilíndrico, de 4 a 7 mm de altura, formado por nove a 14 brácteas involucrais escariosas, hialinas, naviculares, imbricadas, dispostas em três ou quatro séries, de coloração amarela, amarelo-clara, amarelo-pálida a esverdeada, ou ainda amarelo-dourada, amarelo-parda a amarelo-avermelhada. Brácteas externas de 2,5 a 3 mm de comprimento; brácteas medianas de 3,5 a 4,5 mm de comprimento; brácteas internas de 3 a 7 mm de comprimento, todas com tricomas tectores simples, lanosos, de 2 a 3 mm de comprimento e/ou tricomas glandulares apenas no seu terço inferior externo. Flores marginais três a seis, pistiladas, com corola filiforme, de 3 a 4,5 mm de comprimento, dentada ou partida no ápice, com tricomas glandulares na porção apical externa; estilete filiforme, bífido, 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; ovário ínfero, bicarpelar e unilocular, monospermico; papus unisseriado, com cerca de 20 cerdas brancas, ásperas, livres entre si na base, que alcançam quase a mesma altura da corola, raramente mais. Flores do disco uma a três, perfeitas, com corola tubulosa, estreita, de 3 a 4,5 mm de comprimento; tubo ligeiramente dilatado na base e limbo pentadentado, dentes com tricomas glandulares na face externa; androceu com cinco estames, epipétalos, inseridos na metade inferior da corola, com anteras sinânteras, de 1,5 a 2 mm de comprimento, com deiscência longitudinal e introrsa, sagitadas na base, apresentando duas caudas laciniadas, uma de cada lado; conetivo prolongado em um apêndice apical triangular, levemente obtuso, hialino; ovário, estilete e papus semelhantes aos das flores pistiladas. Fruto aquênio, castanho-claro ou pardo, de 0,7 a 0,8 mm de comprimento, elipsoidal a obovado, levemente comprimido, glabro, de superfície papilosa.

B. Descrição microscópica

A face abaxial das brácteas apresenta epiderme formada por células alongadas, de formato retangular. No terço inferior ocorrem tricomas tectores pluricelulares e unisseriados, e/ou glandulares, formados por um pedicelo bi a trisseriado, com três ou quatro camadas de células e por duas células terminais ovalado-alongadas, bem maiores do que as anteriores. Os tricomas glandulares das brácteas medem 60 a 100 µm de comprimento total e sua cabeça possui diâmetro de 30 a 40 µm. O papus é constituído de 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 o tubo da corola. As lacínias são

cobertas na face externa por tricomas glandulares semelhantes aos das brácteas. Os grãos de pólen apresentam exina espinhosa, são esferoidais e tricolpados, medindo de 17 a 35 μm de diâmetro. O ovário é recoberto por uma camada de células epidérmicas poligonais, seguido por um tecido parenquimático constituído por várias camadas de células, que na maturação se reduzem a três ou quatro. Internamente, encontra-se apenas um rudimento seminal anátropo, preenchendo totalmente a cavidade ovariana. O estilete apresenta uma expansão globosa próxima à base, constituída por numerosas células arredondadas, de paredes finas. O fruto, quando maduro, apresenta um pericarpo formado por três ou quatro camadas de células.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarela ou uma variante de amarelo; brácteas involucrais ou seus fragmentos; fragmentos de corola das flores liguladas; fragmentos de corola das flores tubulosas; fragmentos do tubo da corola com células alongadas, de contorno poligonal, com ou sem porções de feixes vasculares; fragmentos de lacínias da corola com tricomas glandulares, como os descritos em microscopia; tricomas glandulares esparsos; cerdas do papus ou seus fragmentos com células projetadas lateralmente; estames ou partes destes com anteras sagitadas na base e cauda laciniada; grãos de pólen como os descritos; estiletos bífidos de base dilatada, ou fragmentos destes; aquênios como os descritos; fragmentos do pericarpo; fragmentos do tegumento da semente.

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

Fase estacionária: celulose.

Fase móvel: clorofórmio, ácido acético e água (50:45:5).

Solução amostra: adicionar 0,3 g da droga em 15 mL de álcool metílico e agitar durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): preparar solução com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de quercetina em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de luteolina em álcool metílico.

Solução referência (3): preparar uma solução com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de 3-O-metilquercetina em álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 μL da *Solução amostra* e 10 μL das *Soluções referência (1), (2) e (3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm, após, no mínimo duas horas.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução referência (3)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Luteolina: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência laranja
3- <i>O</i> -Metilquercetina: zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência amarela
Quercetina: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

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

Fase estacionária: sílica gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico, água (100: 17:10).

Solução amostra: agitar 0,1 g da droga em 15 mL de álcool metílico durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência: preparar solução com concentração de 200 µg/mL de ácido clorogênico em álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. 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>	
	Zona de coloração castanha Zona de fluorescência amarela intensa Zona de coloração azul
	Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarela Zona de coloração castanha
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azulada	Zona de fluorescência azulada Zona de coloração amarela
	Zona de fluorescência azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2,0%. É permitida a presença de pedúnculos e pedicelos das inflorescências, em um comprimento de até 3 cm e correspondendo a um valor máximo de 1,0% do peso seco do conjunto.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 12,5%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6,0%.

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.

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 como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga pulverizada (800 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo com boca esmerilhada de 100 mL. Acrescentar 15 mL de álcool etílico a 80% (v/v)

e aquecer em banho-maria a temperatura de 90 °C, sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento filtrar em pequena porção de algodão para balão volumétrico de 25 mL. Retornar o resíduo da droga e o algodão para o mesmo balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool etílico a 80% (v/v). Aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Após resfriamento, à temperatura ambiente, completar o volume para 25 mL com álcool etílico a 80% (v/v) e homogeneizar. Diluir alíquota de 10 mL dessa solução em balão volumétrico de 25 mL completando com álcool etílico a 80% (v/v).

Solução amostra: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em álcool etílico a 80% (v/v), completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool etílico a 80% (v/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 420 nm, 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais expressos como quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times FD}{m \times 561}$$

em que,

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

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

FD = fator de diluição;

561 = coeficiente de absorção específica da quercetina;

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

Quercetina e 3-O-metilquercetina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 357 nm para a 3-O-metilquercetina e 371 nm para a quercetina, pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida a temperatura de 22 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 5	72 → 65	28 → 35	gradiente linear
5 - 13	65	35	isocrática
13 - 18	65 → 40	35 → 60	gradiente linear
18 - 20	40 → 30	60 → 70	gradiente linear
20 - 25	30 → 72	70 → 28	gradiente linear
25 - 30	72	28	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da droga seca e pulverizada (850 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 15 mL de álcool etílico a 80% (v/v) e levar ao refluxo em banho-maria a 90°C durante 30 minutos. Deixar esfriar a temperatura ambiente. Filtrar o extrato em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Retornar o algodão e o resíduo da droga para o mesmo balão de fundo redondo e extrair novamente, sob refluxo, com mais 10 mL de álcool etílico a 80% (v/v), durante 15 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool etílico a 80% (v/v) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em álcool metílico para obter solução a 54 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (2): dissolver quantidade exatamente pesada de 3-*O*-metilquercetina em álcool metílico para obter solução a 40 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência (1)*, 10 µL da *Solução referência (2)* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção para a quercetina e 3-*O*-metilquercetina são cerca de 18 e 19 minutos, respectivamente. Calcular o teor de quercetina e 3-*O*-metilquercetina, separadamente, em porcentagem, considerando as respectivas *Soluções referências*, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{C_r \times A_a \times 25 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TQ = teor de quercetina ou 3-*O*-metilquercetina % (p/p);

C_r = concentração da quercetina ou 3-*O*-metilquercetina na *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à quercetina ou a 3-*O*-metilquercetina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à quercetina ou a 3-*O*-metilquercetina na *Solução amostra*;

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.

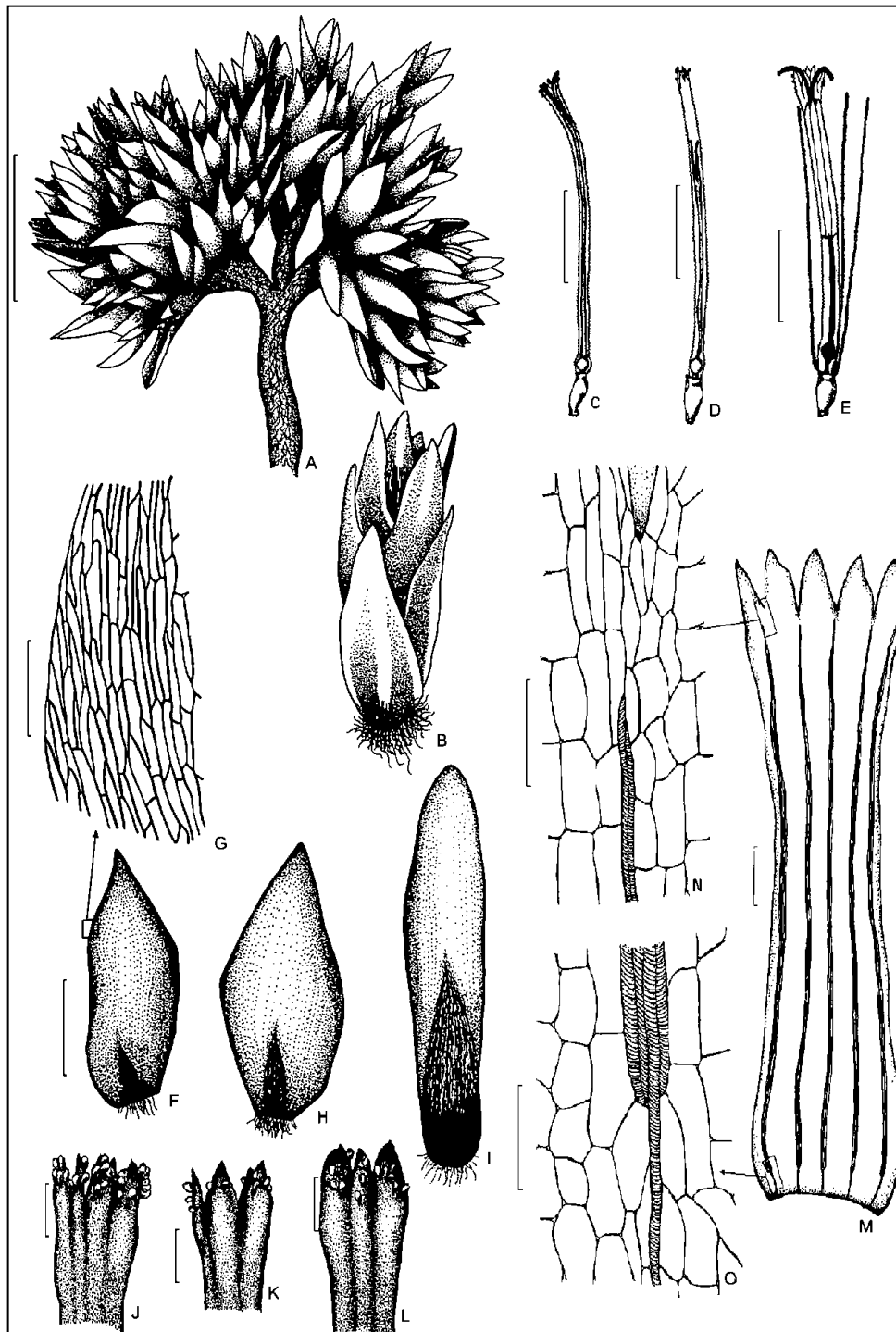


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

As escalas correspondem em A a 5 mm, B, C, D, E, F, H e I a 1 mm, G a 100 μ m, J, K e L a 200 μ m, M a 300 μ m, N e O a 50 μ m.

A - aspecto geral de uma inflorescência. B - aspecto de um capítulo em vista lateral. C e D - flores pistiladas em vista lateral. E - flor perfeita com cerdas do pappus em vista lateral. F - aspecto da bráctea externa do capítulo. G - detalhe do parênquima da bráctea, como indicado em F. H - aspecto da bráctea mediana do capítulo. I - aspecto da bráctea interna do capítulo. J a L - porção apical da corola tubulosa, mostrando a variabilidade de número e tamanho dos tricomas glandulares. M - aspecto geral da nervação da corola. N - detalhe da nervação na porção apical da corola, como indicado em M. O - detalhe da nervação na porção basal da corola, como indicado em M.

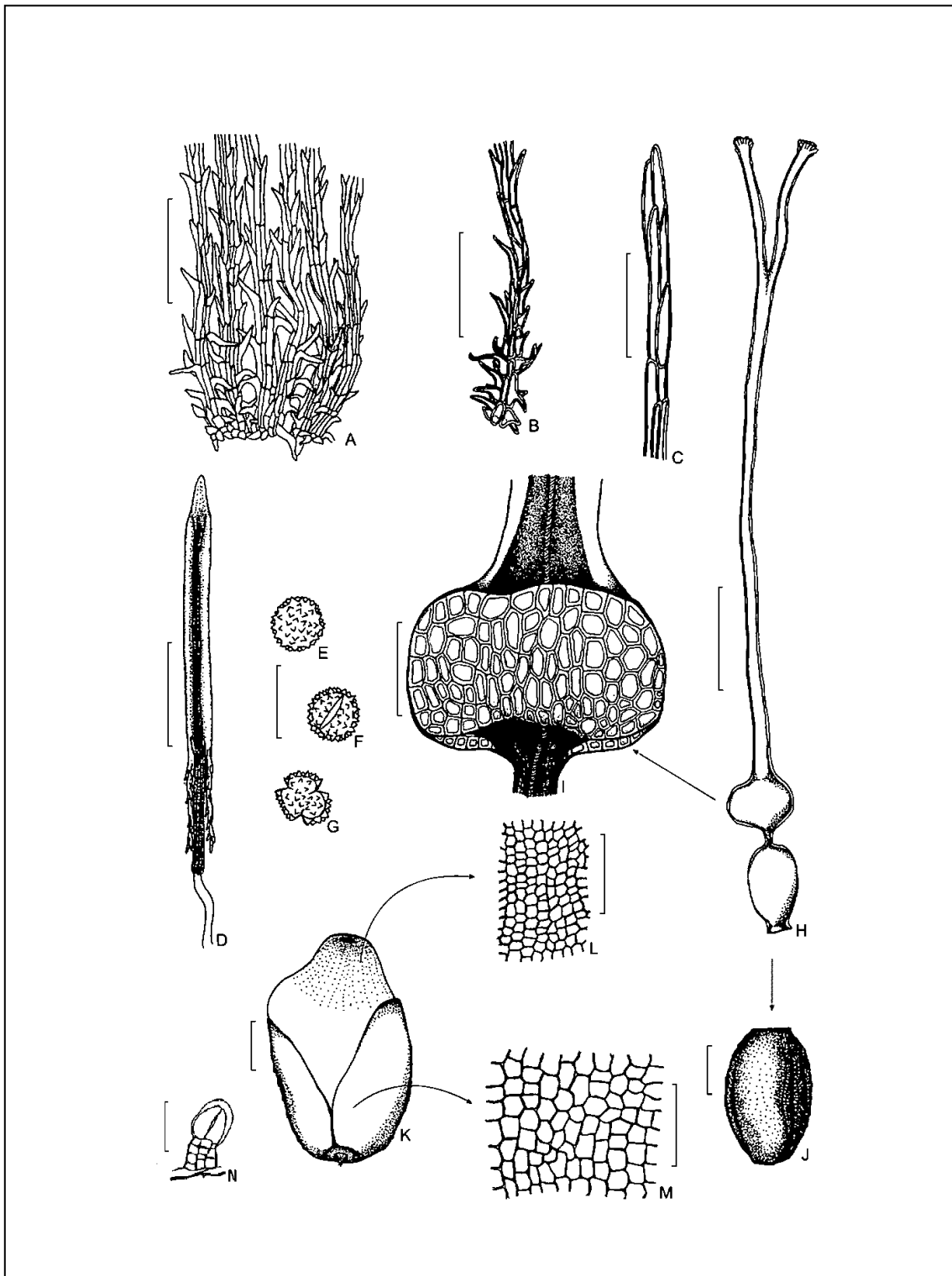


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos do pó em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

As escalas correspondem em A a 10 μm , B, C, D, I, L e M a 100 μm , E, F e G a 30 μm , H a 0,5 mm, J e K a 200 μm , N a 50 μm .

A - detalhe da base do papus. B - base da cerda do papus. C - ápice da cerda do papus. D - estame, em vista lateral. E, F e G - grãos de pólen. H - aspecto do gineceu em vista lateral. I - detalhe do gineceu, na região dilatada indicada em H. J - detalhe do ovário, na região indicada em H. K - fruto, em vista lateral. L - detalhe de fragmento do tegumento da semente na porção indicada em K. M - detalhe de fragmento do pericarpo do fruto na porção indicada em K. N - aspecto de um tricoma glandular com pedicelo trisseriado e duas células terminais.