

CALENDULA, flor
Calendulae flos

La droga consiste en las flores liguladas completamente abiertas, separadas del receptáculo, desecadas, enteras o fragmentadas, obtenidas de los capítulos simples, semidobles de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae), acompañadas de escasas flores tubulosas, brácteas involucrais e raros frutos. Debe contener no menos de 0,4% de flavonoides totales, calculados como hiperósido ($C_{21}H_{20}O_{12}$, 464, 4) sobre la droga desecada.

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. (Asteraceae), acompañadas de escasas 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, 4), em relação ao material dessecado.

Caracteres Organolépticos

La droga posee olor suave y sabor levemente amargo.

Caracteres Organolépticos

A droga possui odor fraco e sabor levemente amargo.

Ensayos de Identificación

A--Descripción 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 4 ou 5 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, escasas, com corola de aproximadamente 5 mm de comprimento, pentalobuladas, de coloração amarela, vermelho-alaranjada ou vermelho-violácea, tubo externamente piloso na porção inferior. Pappus ausente.

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 4 ou 5 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, escasas, com corola de aproximadamente 5 mm de comprimento, pentalobuladas, de coloração amarela, vermelho-alaranjada ou vermelho-violácea, tubo externamente piloso na porção inferior. Pappus ausente.

B-Descripción 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 3 a 5 células, ou bisseriado, com 3 ou 4 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 4 ou 5 feixes vasculares, com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados e helicoidais. Junto às células parenquimáticas das corolas tubulosas são encontrados 5 feixes vasculares bifurcados abaixo da zona de soldadura das pétalas. No ovário ocorrem tricomas glandulares iguais aos das corolas liguladas.

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 3 a 5 células, ou bisseriado, com 3 ou 4 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 4 ou 5 feixes vasculares, com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados e helicoidais. Junto às células parenquimáticas das corolas tubulosas são encontrados 5 feixes vasculares bifurcados abaixo da zona de soldadura das pétalas. No ovário ocorrem tricomas glandulares iguais aos das corolas liguladas.

C-Descripción del polvo

O pó atende 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 40-45 μm de diâmetro, com exina fortemente equinada e com três poros germinativos; ocasionalmente podem ocorrer fragmentos dos estigmas com papilas curtas e bulbosas.

C-Descrição do pó

O pó atende 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 40-45 µm de diâmetro, com exina fortemente equinada e com três poros germinativos; ocasionalmente podem ocorrer fragmentos dos estigmas com papilas curtas e bulbosas.

D. Cromatografía

Proceder según descrito para Cromatografía en capa fina en Métodos Generales.

D. Cromatografía

Proceder conforme descrito em Cromatografía em camada delgada em Métodos Gerais

Fase estacionaria - Emplear una placa recubierta con sílica gel GF254 de 0,25 mm de espesor.

Fase estacionária - Empregar placa recoberta com sílica gel GF254, com espessura de 0,25 mm.

Fase móvil - ácido fórmico anhidro, agua y acetato de etilo (10:10:80).

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

Solución muestra: Calentar a reflujo 1,0 g de droga reducida a polvo con 10,0 ml de metanol durante 10 minutos. Enfriar y filtrar.

Solução amostra: ferver sob refluxo 1 g da droga pulverizada com 10 mL de metanol durante 10 minutos e filtrar.

Solución de referencia: Disolver 1,0 mg de ácido cafeico, 1,0 mg de ácido clorogénico y 2,5 mg de rutina en metanol y completar a volumen de 10 mL utilizando el mismo solvente.

Solução de referência: dissolver 1,0 mg de ácido cafeico, 1,0 mg de ácido clorogênico e 2,5 mg de rutina em metanol, e completar o volume para 10 mL utilizando o mesmo solvente.

Revelador: Utilizar Reactivo de Productos Naturales (RPN)¹ seguido de una solución de macrogol 400 a 5% (p/v) en metanol.

Revelador: Utilizar Reativo de Produtos Naturais (RPN) seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol

Procedimiento: Aplicar por separado sobre la placa, en forma de banda, 20 µl de la Solución muestra y 10 µl de la Solución de referencia.

Procedimento: Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 20 µl da Solução amostra e 10 µl da Solução de referência.

¹ RPN: Solución al 1 % de difenilborinato de 2-aminoetilo en metanol.

RPN: Solución al 1 % de difenilborinato de 2-aminoetilo en metanol

Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, y secar entre 100 y 105 °C. Nebulizar la placa con Revelador RPN seguido de una solución de macrogol 400 a 5% (p/v) en metanol. Dejar secar al aire por 30 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 365 nm.

Desenvolver o cromatograma até que a frente do solvente atinja aproximadamente tres quartas partes da altura da placa. Remover a placa, deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com revelador RPN seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre por 30 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm).

Resultados: Abajo se muestra la secuencia de zonas presentes en cromatograma obtenido con la solución de referencia y la solución muestra. Otras bandas pueden ocasionalmente estar presentes.

Resultados: O esquema abaixo apresenta a sequência de zonas presentes no cromatograma obtido com a solução de referência e a solução amostra. Outras bandas podem ocasionalmente estar presentes.

Acido cafeico: banda de fluorescencia celeste	banda de fluorescencia verde amarillenta banda de fluorescencia celeste
Acido clorogénico: banda de fluorescencia celeste	banda de fluorescencia celeste
Rutina: banda de fluorescencia pardo amarillenta	banda de fluorescencia pardo amarillenta banda de fluorescencia verde amarillenta
Solución Referencia	Solución Muestra

Ensayos de Pureza

Materia Extraña: No debe contener más de 5 % de brácteas y no más de 2,0 % de otros elementos extraños.

Ensaio de pureza

Matéria estranha: Não deve conter mais de 5% de brácteas e 2% de outros elementos estranhos.

Cenizas totales

No más de 10,0 %.

Cinzas Totais

No máximo 10,0%.

Pérdida por secado

No máximo 12% con 1 g de droga a 105 °C durante 2 horas.

Perda por dessecação

No máximo 12,0% con 1 g de droga a 105 °C durante 2 horas.

Control microbiológico

Debe cumplir con los requisitos.

Controle microbiológico

Debe atender os requisitos

Metales pesados

Método I. No más de 0,001 %.

Metais pesados

Método I. No más de 0,001 %.

Residuo de pesticidas.

Debe cumplir con los requisitos.

Residuo de pesticidas.

Debe atender os requisitos

Aflatoxinas

Debe cumplir con los requisitos.

Aflatoxinas

Debe atender os requisitos

Valoración

Preparación muestra - Pesar 0,400 g de la droga reducida a polvo fino (800 μ m), y colocar en un balón. Agregar 1,0 ml de la solución al 0,5 % de hexametilentetramina, 20 ml de acetona y 2 ml de ácido clorhídrico y calentar a reflujo en un balón de 100 ml durante 30 minutos. Filtrar a través de algodón y transferir el filtrado a un matraz de 100 ml. Agregar el algodón al residuo en el balón y calentar a reflujo con una porción de 20 ml de acetona durante 10 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente, filtrar a través de algodón y repetir este procedimiento con otra porción de 20 ml de acetona. Reunir estos extractos, filtrar con papel de filtro y transferir el filtrado al matraz. Completar a volumen con acetona lavando el balón y el filtro. Transferir 20,0 ml de la solución anterior a una ampolla de decantación, agregar 20 ml de agua y extraer con una porción de 15 ml y tres porciones de 10 ml de acetato de etilo. Combinar los extractos en una ampolla de decantación, lavar con dos porciones de 50 ml de agua, filtrar la fase orgánica sobre 10 g de sulfato de sodio anhidro y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Completar a volumen con acetato de etilo y homogeneizar.

Doseamento

Solução estoque: pesar, exatamente, cerca de 0,4 g de droga pulverizada (800 μ m), e transferir para balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de hexametilentetramina 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 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. Em funil de separação, adicionar 20 mL dessa solução e 20 mL de água destilada e após, extrair com 15 ml de acetato de etila R, repetindo-se por três vezes, com porções de 10 ml de acetato de etila R. Reunir as fases acetato de etila e lavá-las em funil de separação, com duas porções de 50 ml de água destilada, filtrar a fase orgânica sobre 10 g de sulfato de sódio anidro, transferindo a seguir para balão volumétrico de 50 ml completando-se o volume com acetato de etila R.

Solución de cloruro de aluminio - Dissolver 2,0 g de cloruro de alumínio em 100 ml de uma solução de ácido acético glacial em metanol 5 % v/v.

Solução de cloreto de alumínio: Dissolver 2,0 g de cloreto de alumínio em 100 mL de uma solução de ácido acético glacial em metanol 5% v/v.

Solución problema - Transferir 10,0 ml de la *Preparación muestra* a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1 ml de *Solución de cloruro de aluminio* y completar a volumen con una solución de ácido acético glacial en metanol 5 % v/v.

Solução-amostra: Pipetar 10 ml da *solução-mãe em um balão volumétrico de 25 mL*, adicionar 1 ml de solução de cloreto de alumínio, e completar o volume com solução metanólica de ácido acético 5% (v/v).

Solución blanco - Transferir 10,0 ml de la *Preparación muestra* a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con una solución de ácido acético glacial en metanol 5 % v/v.

Solução-branco: Pipetar 10 ml da *solução-mãe* para balão volumétrico de 25 ml e completar com solução metanólica de ácido acético a 5% (v/v).

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Solución problema* luego de 30 minutos por comparación con la *Solución de compensación*, a 425 nm. Calcular el porcentaje total de flavonoides expresados como hiperósido, aplicando la siguiente fórmula:

Procedimento: Exatamente após 30 minutos, medir a absorvância da *solução-amostra* a 425 nm, em cubeta de 1 cm, utilizando *solução-branco* para ajuste do zero. Calcular a porcentagem de flavonóides totais *expressos como hiperósido* segundo a fórmula:

$$\% \text{ flavonoides totais} = \frac{A \times FD \times 100}{E \frac{1\%}{1\text{cm}} (m - PD)}$$

em que

A= absorvância da *Solução amostra* medida;

FD= fator de diluição (625);

m = massa da droga (g);

PD = perda por dessecação (g);

$$E_{1cm}^{1\%} = 500$$

Conservación

En recipientes de vidrio, bien cerrados, al abrigo de la luz y del calor.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes de vidro, bem-fechados, ao abrigo da luz e do calor.

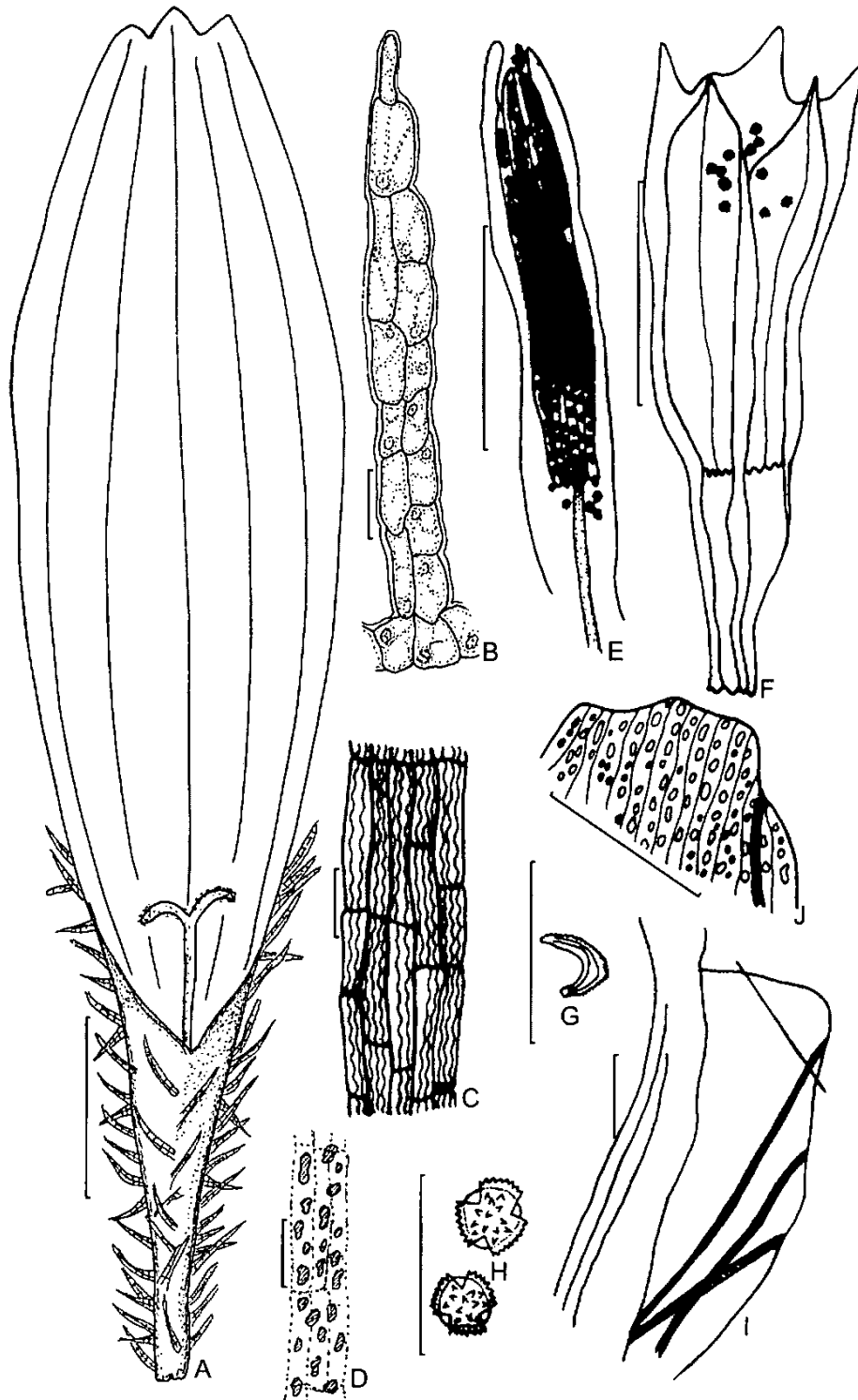


Figura 1. *Calendula officinalis* L. - A. flor pistilada ligulada; B. tricoma tector multicelular bisseriado do tubo da corola da flor ligulada; C. epiderme da lígula com cutícula estriada; D. parênquima da lígula contendo gotas de óleo; E. anteras da flor tubulosa; F. corola da flor tubulosa do disco; G. fruto; H. grãos de pólen tricolpados; I. fragmento de lígula; J. detalhe do parênquima com gotas de óleo na porção indicada em I. As régua correspondem: A, B, C, D, G.

H e J a 100 μm ; E, F e I a 500 μm .

Legenda da Figura: *1 a B; 2 a N, 3 a D; E, H, I-K, O y 4 a C, F, G.*