

MACELA

Achyroclines flos

A droga vegetal é constituída pelas inflorescências secas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. A droga deve conter, no mínimo, 3% de flavonoides totais calculados como quercetina; e, no mínimo, 0,8 % de quercetina (C₁₅H₁₀O₇, 302,24) e 0,6% de 3-*O*-metilquercetina (C₁₆H₁₂O₇, 316,26).

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta coloração amarelo-ouro e odor aromático característico. A coloração das inflorescências secas pode variar, não correspondendo a estágios de maturação.

DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

A droga é constituída pelas flores reunidas em capítulos agrupados em glomérulos, sendo estes por sua vez organizados em cimas paniculiformes. Cada capítulo apresenta 4 a 8 flores dimorfas, protegidas por um involúcro subcilíndrico, de 4,0 a 7,0 mm de altura, formado por 9 a 14 brácteas involucrais escariosas, hialinas, naviculares, imbricadas, dispostas em 3 ou 4 séries, amarelas, amareladas, amarelo-palha, amarelo-pálido a esverdeadas, ou ainda amarelo-douradas, amarelo-pardo a amarelo-avermelhadas. Brácteas externas de 2,5 a 3,0 mm de comprimento; brácteas medianas de 3,5 a 4,5 mm de comprimento, brácteas internas de 3,0 a 7,0 mm de comprimento, todas com tricomas tectores simples, lanosos, de 2,0 a 3,0 mm de comprimento e/ou tricomas glandulares apenas no seu terço inferior externo. Flores marginais 3 a 6, pistiladas, com corola filiforme, de 3,0 a 4,5 mm de comprimento, dentada ou partida no ápice, com tricomas glandulares na porção apical externa; estilete filiforme, bifido, 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, monospérmico; 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 1 a 3, hermafroditas, com corola tubulosa, estreita, de 3,0 a 4,5 mm de comprimento, tubo ligeiramente dilatado na base e limbo pentadentado, dentes com tricomas glandulares na face externa; androceu com 5 estames, epipétalos, inseridos na metade inferior da corola, com anteras sinânteras, de 1,5 a 2,0 mm de comprimento, com deiscência longitudinal e introrsa, sagitadas na base, com cauda laciniada; 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.

Para comprovar a identidade da espécie, verificar a presença de ramos não alados junto às inflorescências.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

A face abaxial das brácteas apresenta epiderme formada por células alongadas, de contorno retangular. No terço inferior ocorrem tricomas tectores pluricelulares e unisseriados, e/ou glandulares, formados por um pedicelo bi a trisseriado, com 3 ou 4 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 por 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 seu tubo. As lacínias são cobertas abaxialmente 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 após o completo desenvolvimento, reduzem-se a 3 ou 4. Internamente, encontra-se apenas um rudimento seminal anátropo, preenchendo totalmente a cavidade ovariana. O estilete apresenta, próximo à base, uma expansão globosa, constituída por numerosas células arredondadas, de paredes finas. O fruto, quando maduro, apresenta um pericarpo formado por 3 ou 4 camadas de células.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarela ou uma variante de amarelo; brácteas involucrais ou seus fragmentos como descrito acima; 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; 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.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada*.

Fase estacionária - celulose.

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

Solução amostra: Agitar 0,3 g da droga em 15 mL de metanol durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Ressuspender o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução de referência (1): Preparar solução com concentração de 100 µg/mL de quercetina em metanol.

Solução referência (2): Preparar uma solução com concentração de 100 µg/mL de luteolina em metanol.

Solução referência (3): Preparar uma solução com concentração de 100 µg/mL de 3-O-metilquercetina em metanol.

Revelador: solução à 1% de difenilborato de aminoetanol em metanol (A),
solução de polietilenoglicol 400 5% (p/v) em metanol (B).

Procedimento: Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL das *Soluções referência (1, 2 e 3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com o revelador A e em seguida, com o revelador B. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm) após, no mínimo, 2 horas.

Resultados: O esquema abaixo apresenta a sequência de zonas presentes no cromatograma obtido com a *Solução amostra* e as *Soluções referência* (1, 2 e 3). Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Luteolina: zona fluorescente laranja	Zona fluorescente laranja: luteolina
3-O-metilquercetina: zona fluorescente amarela	Zona fluorescente amarela: 3-O-metilquercetina
Quercetina: zona fluorescente laranja	Zona fluorescente laranja: quercetina
Solução referência	Solução amostra

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada*.

Fase estacionária: sílica gel GF254.

Fase móvel: acetato de etila, metanol, água (100: 17:10 v/v/v).

Solução amostra: Agitar 0,1 g da droga em 15 mL de metanol durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Ressuspender o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução de referência: Preparar solução com concentração de 200 µg/mL de ácido clorogênico em metanol.

Revelador: solução de difenilborato de aminoetanol em metanol à 1% (p/v) (A),
solução de polietilenoglicol 400 em metanol à 5% (p/v) (B).

Procedimento: Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com o revelador A e em seguida, com o revelador B. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm).

Resultados: O esquema abaixo apresenta a sequência de zonas presentes no cromatograma obtido com a *Solução amostra* e a *Solução referência*. Outras zonas de fluorescência amarela podem estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração castanha Zona de coloração amarela intensa Zona de coloração azul
	Zona fluorescente amarela Zona fluorescente amarela Zona fluorescente amarela Zona de coloração castanha
Ac. clorogênico: zona fluorescente azulada	Zona fluorescente azulada Zona de coloração amarela
	Zona fluorescente azulada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Determinação de matéria estranha. No máximo 2%. É permitida a presença de pedúnculos e pedicelos das inflorescências, em um comprimento de até 3 cm e correspondendo a um valor não maior do que 1% do peso seco do conjunto.

Determinação de perda por dessecação. Utilizar método gravimétrico. No máximo 12,5%.

Determinação de cinzas totais. No máximo 6%.

Determinação de microrganismos. Cumpre o teste.

Determinação de metais tóxicos e arsênio. Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Flavonoides totais

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível*.

Solução estoque: pesar, exatamente, cerca de 0,1 g da droga pulverizada (800 µm) em balão de fundo de redondo com boca esmerilhada de 100 mL. Acrescentar 15 mL de etanol 80% (v/v) e aquecer em banho-maria (90 °C ± 2 °C), sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento filtrar através de pequeno pedaço de algodão para balão volumétrico 25 mL. Retornar o resíduo da droga e algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de etanol 80% (v/v). Aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Após resfriamento, à temperatura ambiente, ajustar o volume para 25 mL com etanol 80% (v/v). Diluir alíquota de 10 mL a 25 mL com etanol 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 etanol 80% (v/v) e completar o volume com o mesmo solvente.

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

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, expresso como quercetina, segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times FD}{m \times A_{1cm}^{1\%}}$$

em que

TF= teor de flavonoides totais, expresso em gramas de quercetina por 100 g da droga seca;

A = absorvância;

FD = fator de diluição;

$A_{1cm}^{1\%}$ = coeficiente de absorção específica.

Absorção específica da quercetina: dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em etanol 80% (v/v) para obter solução a 200 µg/mL. A alíquota de 1,1 mL da solução 200 µg/mL, adicionar 2 mL de cloreto de alumínio 2% em etanol 80% (v/v), ajustar o volume para 25,0 mL com o mesmo solvente. Ler a absorção em 420 nm após 30 minutos de complexação. Utilizar para o ajuste do zero a solução que segue: 1,1 mL de etanol 80% (v/v), adicionar 2 mL de cloreto de alumínio 2% em etanol 80% (v/v), ajustar o volume para 25 mL com o mesmo solvente. Fazer reação em triplicata. Calcular o coeficiente de absorção específica da quercetina de acordo com a fórmula abaixo:

$$A_{1cm}^{1\%} = \frac{A}{C}$$

em que

$A_{1cm}^{1\%}$ = coeficiente de absorção específica;

C = concentração da amostra em g%;

A = absorvância.

Quercetina e 3-O-metilquercetina

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia à líquido de alta eficiência*. 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 ambiente (22 °C); fluxo da fase móvel de 0,6 mL/minuto.

Eluente A: água : ácido trifluoracético (100:0.006, v/v).

Eluente B: acetonitrila.

Gradiente de fase móvel: adotar sistema de gradiente linear, conforme tabela a seguir.

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

Solução amostra: pesar exatamente, cerca de 0,15 g da droga seca e moída (850) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 15 mL de etanol 80% (v/v), levar ao refluxo em banho-maria (90°C) por 30 minutos. Deixar esfriar a temperatura ambiente. Filtrar o extrato através de 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 etanol 80% (v/v), durante 15 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com etanol 80% (v/v).

Solução de quercetina: dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em metanol, para obter solução a 54 µg/mL.

Solução de 3-O-metilquercetina: dissolver quantidade exatamente pesada de 3-O-metilquercetina em metanol, para obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções de quercetina e 3-O-metilquercetina* e da *Solução amostra* em triplicata, 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 na amostra a partir das substâncias referências. O resultado é expresso pela média das determinações em g% de droga vegetal, considerando a perda por dessecação, segundo a expressão:

$$\% = \frac{C_p \times AA}{A_p \times m} \times 25 \times 100$$

em que

C_p= concentração do padrão quercetina ou 3-O-metilquercetina em gramas/mL;

A_p= área correspondente à quercetina ou 3-O-metilquercetina no cromatograma obtido com a *Solução de quercetina* ou *Solução de 3-O-metilquercetina*;

AA= área correspondente à quercetina ou 3-O-metilquercetina no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, ao abrigo da luz, do calor e da umidade.

ROTULAGEM

De acordo com a legislação vigente.

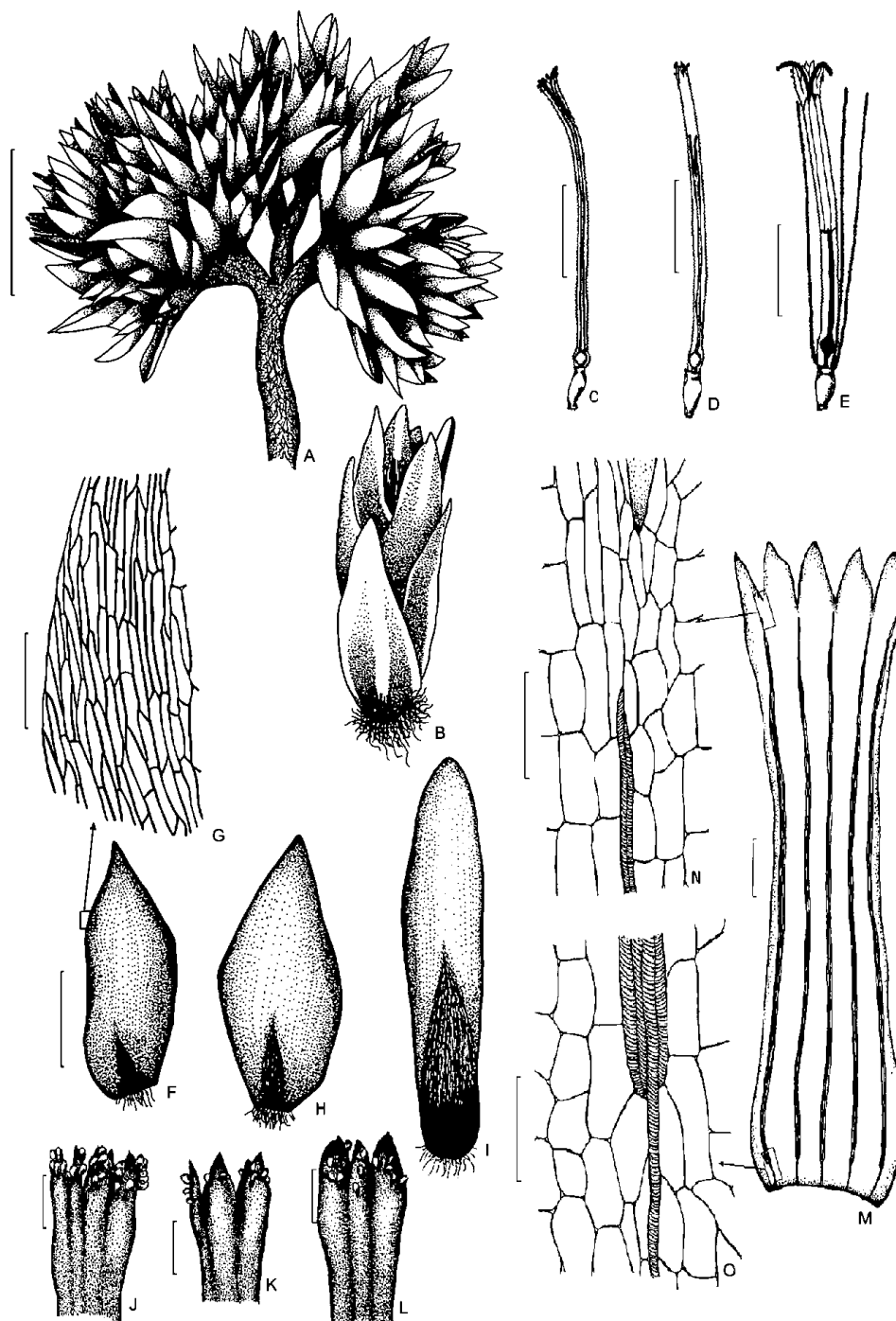


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

Complemento da legenda da Figura 1. 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**.

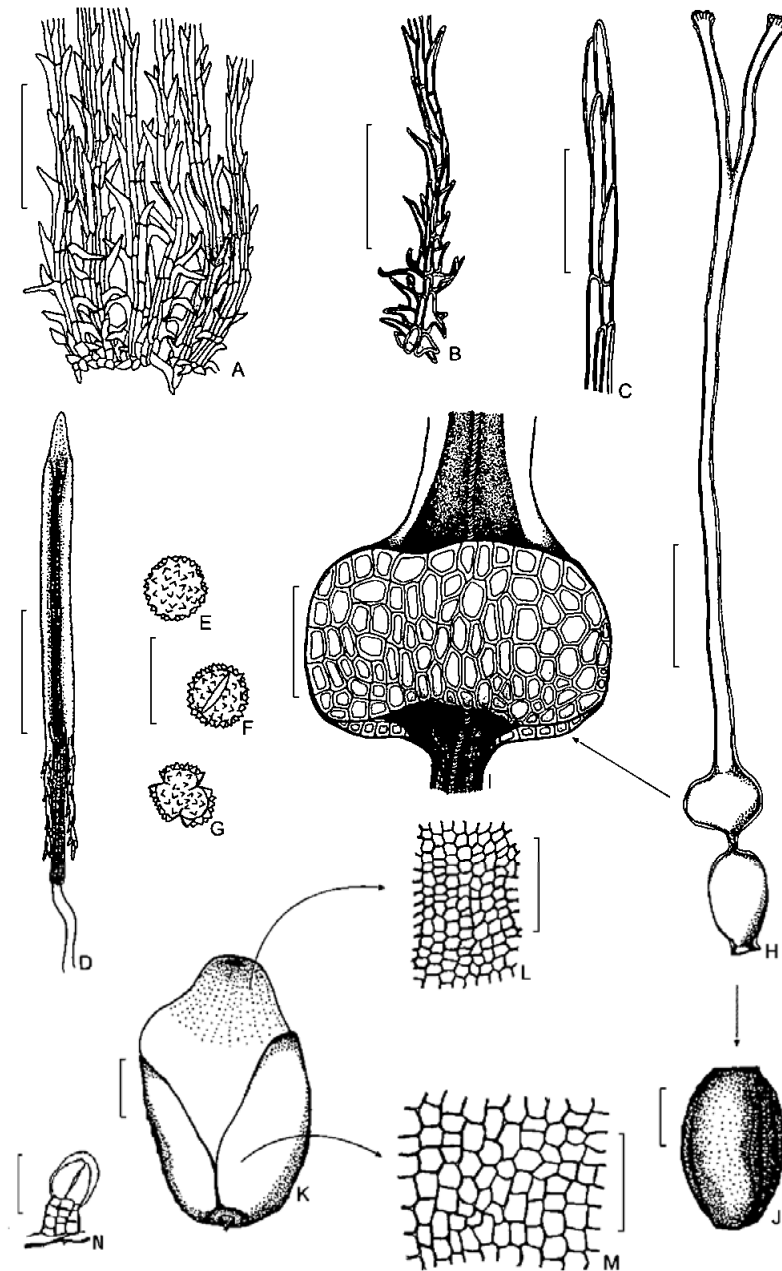


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos do pó em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

Complemento da legenda da Figura 2. 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.