

## CALENDULA, 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<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>, 464,4), em relação ao material dessecado.

### ENSAIOS DE 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 4 ou 5 nervuras paralelas; flores ocasionalmente acompanhadas de um estilete filiforme e um estigma bífido; 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. Pappus 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 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 - Descrição microscópica 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  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com exina fortemente equinada e com três poros germinativos; ocasionalmente podem ocorrer fragmentos dos estigmas com papilas curtas e bulbosas.

#### *D - Cromatografia*

Proceder conforme descrito em Cromatografia em camada delgada em Métodos Gerais.

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

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

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

*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 solução a 1% de difenilborinato de 2-aminoetilo em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol.

*Procedimento*: Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 20  $\mu\text{l}$  da Solução amostra e 10  $\mu\text{l}$  da Solução de referência. Deixar secar as aplicações e desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar e nebulizar com revelador. Deixar secar ao ar livre por 30 minutos e examinar sob luz ultravioleta 365 nm.

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

Acido cafeico: zona de fluorescência azul clara	zona de fluorescência verde-amarelada zona de fluorescência azul clara
Acido clorogênico: zona de fluorescência azul clara	zona de fluorescência azul clara
Rutina: zona de fluorescência pardo-amarelada	zona de fluorescência pardo-amarelada zona de fluorescência verde-amarelada
Solução de Referência	Solução Amostra

## ENSAIOS DE PUREZA

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

### *Cinzas Totais*

No máximo 10,0%.

### *Perda por dessecação*

No máximo 12,0% com 1 g da droga (500) a 105 °C durante 2 horas.

## ENSAIOS DE CONTAMINANTES

*Ensaio microbiológicos.* Deve cumprir as especificações.

*Determinação de micotoxinas.* Deve cumprir as especificações.

*Metais tóxicos e arsênio.* Deve cumprir as especificações.

*Resíduo de agrotóxicos.* Deve cumprir as especificações.

## DOSEAMENTO

*Solução estoque* - Pesar, exatamente, cerca de 0,8 g de droga pulverizada (500), e transferir para balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de hexametilenotetramina a 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer 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 e adicionar 20 mL de acetona. Aquecer sob refluxo, por 10

minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, filtrar a mistura por algodão para o balão volumétrico de 100 mL. Repetir a operação com 20 mL de acetona. Em seguida, reunir os extratos, filtrar com papel filtro e completar o volume a 100 mL em balão volumétrico, com acetona. Transferir 20 mL dessa solução para funil de separação. Adicionar 20 mL de água destilada e extrair com 15 mL de acetato de etila R, repetindo-se a extração 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. Completar o volume com acetato de etila R e homogeneizar.

*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.

*Solução teste:* Transferir 10 mL da *solução estoque* para 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).

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

#### *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:

$$\% \text{ flavonoides totais} = \frac{A \times 1,25}{m}$$

em que

A= absorvância a 425 nm da *Solução amostra* medida;

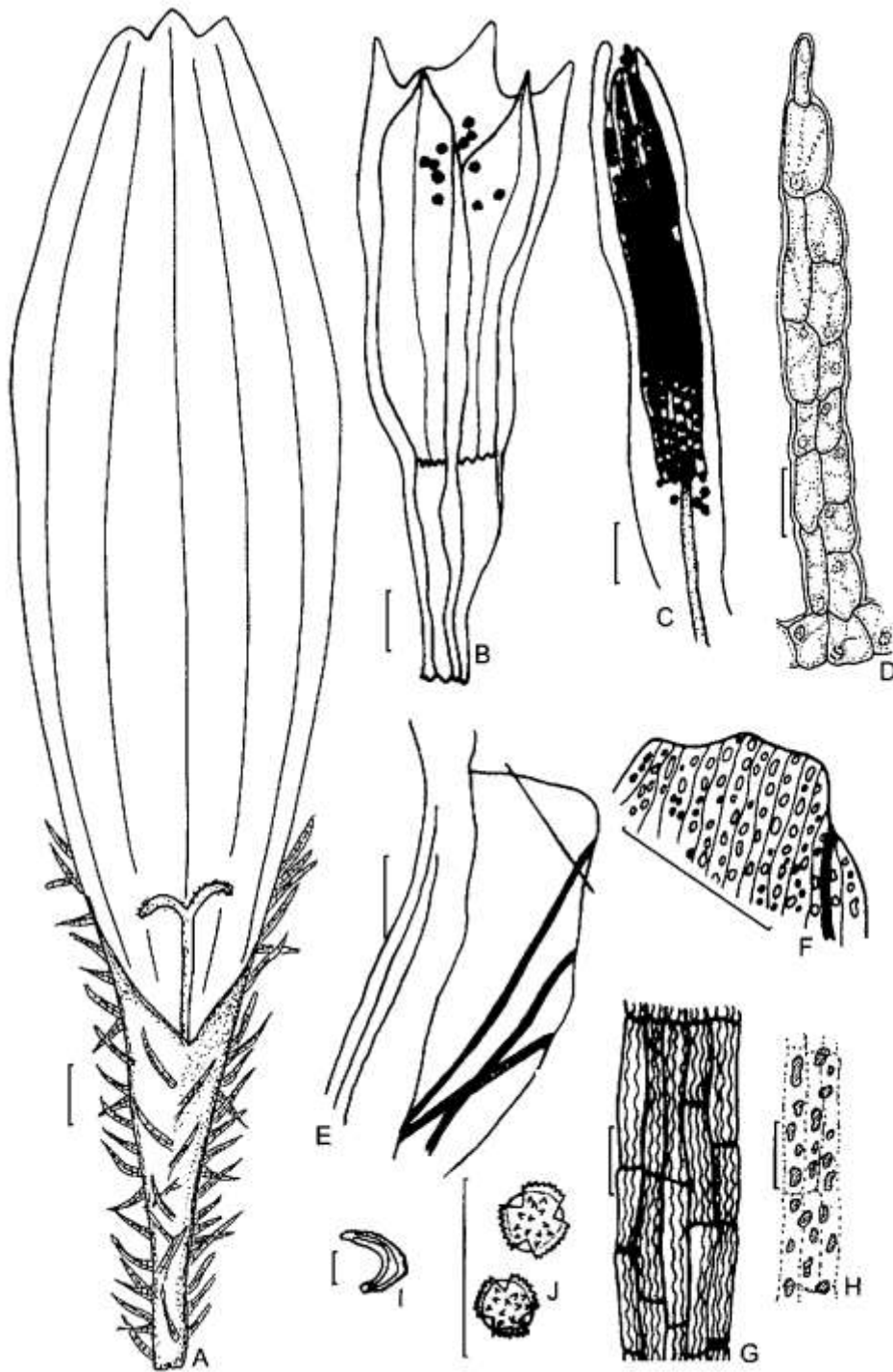
m = massa da droga seca (g), considerando a perda por dessecação.

### **EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO**

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

### **ROTULAGEM**

Observar a legislação vigente.



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

Complemento da legenda da Figura 1. As escalas correspondem em A a 1 mm; em B e C a 0,5 mm; em D a H a 100  $\mu$ m e em I a 1  $\mu$ m.

**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.