

## **MACELA, inflorescência**

### *Achyroclines flos*

A droga vegetal consiste de inflorescências secas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., contendo, no mínimo, 3% de flavonoides totais calculados como quercetina, no mínimo, 0,8% de quercetina (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>, 302,24), e, no mínimo, 0,6% de 3-*O*-metilquercetina (C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, 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 pelas 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 4,0 a 7,0 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-pardo a amarelo-avermelhada. 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 três a seis, 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, 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 3,0 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, 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

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; 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 metanol e agitar durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol.

*Solução 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.

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaça, 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 cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de polietilenoglicol 400 a 50 g/L em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm, após, no mínimo 2 horas.

*Resultados:* no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução referência (3)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Luteolina: zona fluorescente laranja	Zona fluorescente laranja (luteolina)
3- <i>O</i> -metilquercetina: zona fluorescente amarela	Zona fluorescente amarela (3- <i>O</i> -metilquercetina)
Quercetina: zona fluorescente laranja	Zona fluorescente laranja (quercetina)
<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 GF<sub>254</sub>.

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

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

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

*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 polietilenoglicol 400 a 5% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

*Resultados:* no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução referência*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração castanha Zona de coloração 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%. 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% do peso seco do conjunto.

**Perda por dessecação (5.4.2.3).** *Método gravimétrico.* No máximo 12,5%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 6%.

**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 etanol 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 etanol 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 etanol a 80% (v/v) e homogeneizar. Diluir alíquota de 10 mL dessa solução a 25 mL com etanol 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 etanol 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 etanol 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:

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

em que,

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

A = absorvância medida;

FD = fator de diluição;

$A_{1cm}^{1\%}$  = coeficiente de absorção específica da quercetina (561); e

m = massa em gramas da amostra, 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.

*Fase móvel (1):* água e ácido trifluoracético (100:0,006).

*Fase móvel (2):* acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 5	72 → 65	28 → 35	gradiente linear
5 - 13	65	35	isocrático
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	isocrático

*Solução amostra:* pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da droga seca e moída (850) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 15 mL de etanol 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 etanol a 80% (v/v), durante 15 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com etanol a 80% (v/v) e homogeneizar.

*Solução referência (1)*: dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em metanol para obter solução a 54 µg/mL.

*Solução referência (2)*: dissolver quantidade exatamente pesada de 3-*O*-metilquercetina em metanol para obter solução a 40 µg/mL.

*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;

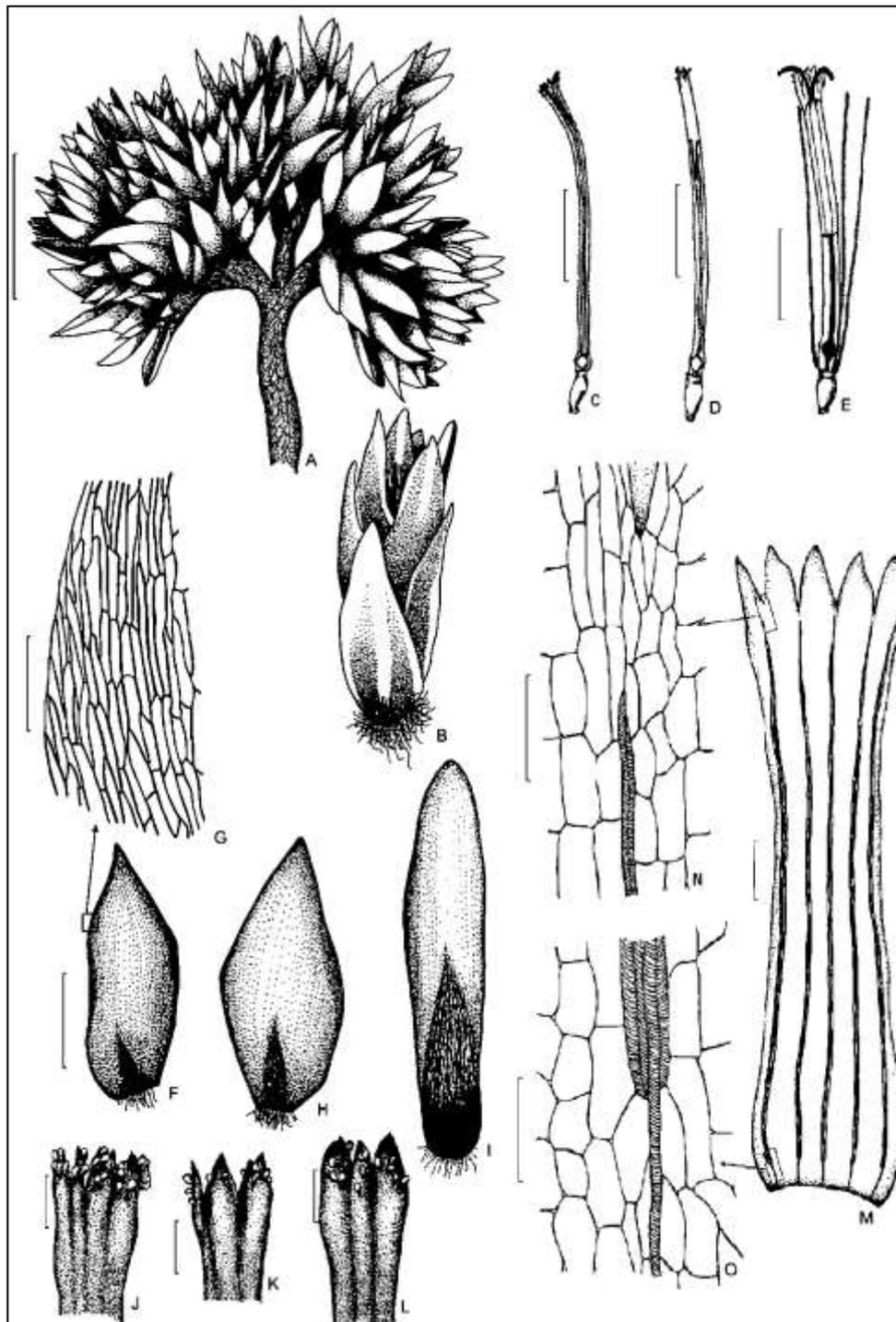
$A_r$  = área sob o pico correspondente à quercetina ou a 3-*O*-metilquercetina na *Solução referência*;

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

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

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

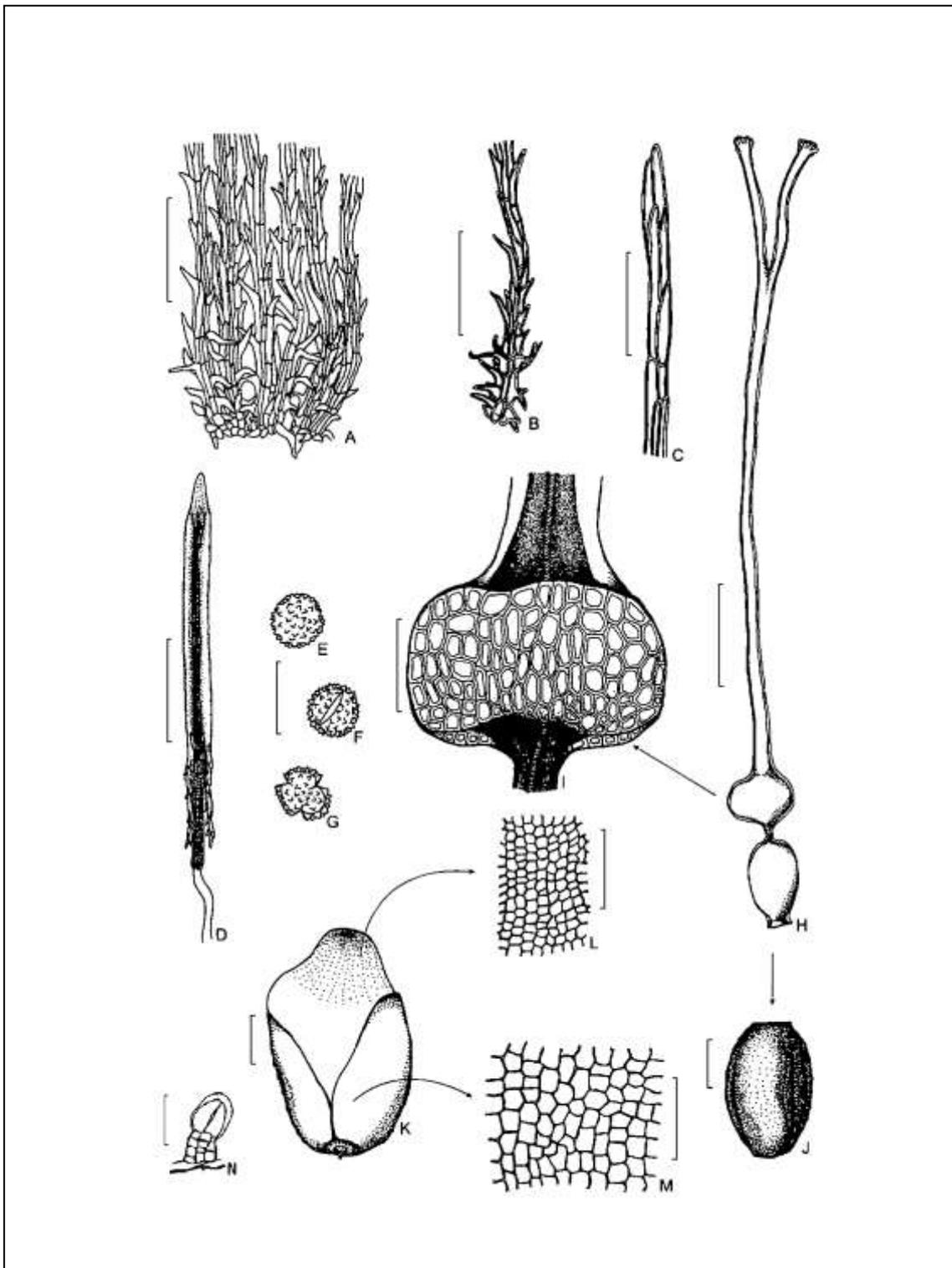
Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.



**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  $\mu$ m, J, K e L a 200  $\mu$ m, M a 300  $\mu$ m, N e O a 50  $\mu$ 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  $\mu\text{m}$ , B, C, D, I, L e M a 100  $\mu\text{m}$ , E, F e G a 30  $\mu\text{m}$ , H a 0,5 mm, J e K a 200  $\mu\text{m}$ , N a 50  $\mu\text{m}$ .

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.