

## SABUGUEIRO DO BRASIL

### *Sambucus australis* flos

*Sambucus australis* Cham. & Schtdl. – CAPRIFOLIACEAE

A droga vegetal é constituída pelas flores secas contendo, no mínimo, 2,0% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 0,80% de rutina.

#### CARACTERÍSTICAS

**Características organolépticas.** As flores secas têm odor leve e aromático característico; sabor levemente amargo.

#### DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Flores secas, amareladas pela dessecação, pentâmeras ou tetrâmeras, diclamídeas, gamopétalas, actinomorfas, estaminadas, com estames longos ou pistiladas, com estames curtos, medindo 7,0 mm a 10,1 mm de diâmetro, cada uma apresentando três diminutas brácteas verdes, distribuídas no pedicelo e/ou receptáculo em diferentes alturas, visíveis com lente de aumento. Brácteas papilosas, com tricomas tectores e glandulares na porção basal da face adaxial. Botões florais globosos, esbranquiçados ou amarronzados, medindo 1,0 mm a 3,0 mm de diâmetro. Cálice com sépalas amarelo-esverdeadas, triangular-ovaladas, medindo 1,0 mm a 1,5 mm de comprimento e 1,0 mm de largura na porção basal, levemente soldadas entre si na base, com tricomas tectores e glandulares abundantes na porção basal da face adaxial e sem dentes marginais. Corola rotada, branca a branco-amarelada, de pré-floração imbricada, com pétalas soldadas entre si na base em um curto tubo. Pétalas ovaladas a elípticas, de ápice retrorso, medindo 2,5 mm a 5,0 mm de comprimento e 1,5 mm a 3,0 mm de largura. No material fresco a corola se desprende com facilidade, apresentando aspecto de estrela de cinco pontas. Androceu formado por cinco ou quatro estames, curtos ou longos, dispostos alternadamente às pétalas, com filetes aderidos ao tubo da corola. Anteras ditecas, extrorsas, dorsifixas, oblongas, deiscentes nas flores estaminadas e indeiscentes nas flores pistiladas, amarelas, com 1,0 mm de comprimento. Filetes glabros e cilíndricos, curtos nas flores pistiladas, com 1,0 mm a 2,0 mm de comprimento e longos nas flores estaminadas, com 3,0 mm a 4,0 mm de comprimento. Ovário infero, soldado ao tubo calicino, pentacarpelar ou tetracarpelar, raro tricarpelar, pentalocular ou tetralocular, raro trilocular, com carpelos bem demarcados nas flores secas, com um rudimento seminal por lóculo, de placentação axial. Gineceu globoso e papiloso, com um curto estilete e estigma pentalobado. Um disco anelado e proeminente envolve a base do gineceu.

#### DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Brácteas anfiestomáticas, estômatos do tipo anomocítico, mesofilo homogêneo; em vista frontal, a cutícula apresenta estrias que acompanham o eixo maior das células epidérmicas, as quais contêm abundantes gotas lipídicas

esféricas; tricomas tectores e glandulares ocorrem na porção basal da face adaxial; em secção transversal, a cutícula é espessa e estriada, a epiderme é uniestratificada, o mesofilo tem até quatro camadas de clorênquima de células isodiamétricas e o sistema vascular é composto por um a quatro feixes vasculares ou por agrupamentos xilemáticos, com ou sem endoderme, sem ou com poucos cloroplastídios; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos, exceto no xilema. Receptáculo, em vista frontal, com cutícula pouco estriada e com tricomas glandulares na região de inserção da bráctea; em secção transversal, apresenta epiderme uniestratificada, tecido parenquimático formado por até doze camadas de células isodiamétricas, feixes vasculares do tipo colateral, distribuídos em forma de anel pelo tecido parenquimático; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos. Sépalas hipoestomáticas, com estômatos do tipo anomocítico, com uma a três nervuras paralelas; a cutícula, em vista frontal, é fortemente estriada e as células epidérmicas têm paredes sinuosas; tricomas tectores e glandulares são visíveis; idioblastos de oxalato de cálcio ausentes; em secção transversal, a epiderme é uniestratificada, o mesofilo é homogêneo, formado por duas a sete camadas de células isodiamétricas; o sistema vascular está representado por um a três agrupamentos xilemáticos, com até cinco elementos traqueais de espessamento helicoidal; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos. Pétalas anfi-hipoestomáticas, com estômatos do tipo anomocítico, e com cinco, raro quatro nervuras paralelas, as secundárias partindo da principal, ramificadas ou não; tricomas tectores e glandulares ocorrem principalmente na face adaxial; idioblastos de oxalato de cálcio ausentes; a cutícula, em vista frontal, é muito estriada na face adaxial e menos estriada na face abaxial; a epiderme é uniestratificada, com células papilosas, papilas menos proeminentes nas regiões dos bordos; o mesofilo é homogêneo, formado por até doze camadas de parênquima frouxo; o sistema vascular está representado por três a seis feixes vasculares colaterais; gotas lipídicas estão presentes em todos os tecidos; grãos de amido elipsóides estão presentes nos parênquimas dos tecidos de condução. O filete, em vista frontal, apresenta cutícula estriada; em secção transversal apresenta forma circular, a epiderme é uniestratificada e sem estômatos, o parênquima é frouxo, desprovido de cloroplastídios e com poucas gotas lipídicas e o sistema vascular é formado por elementos traqueais de espessamento helicoidal. A antera, em secção transversal, possui epiderme papilosa, o tapete é uniestratificado e o endotécio é formado por duas a três camadas de células fibrosas, com pontoações evidentes. O grão de pólen é prolato, tricolporado, com 18 µm a 34 µm de diâmetro, com superfície reticulada, em vista polar arredondado e em vista equatorial, elipsoidal. O gineceu é formado por cinco, quatro ou raro três carpelos, e cada cavidade apresenta um rudimento seminal; em secção transversal, o tecido parenquimático da parede carpelar é compacto, formado por células ricas em cloroplastídios e gotas lipídicas e os feixes vasculares estão distribuídos em anel; o parênquima mais interno é desprovido de cloroplastídios e apresenta espessamento parietal evidente em todas as paredes; as células epidérmicas do estigma são extremamente papilosas.

## DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para as flores desta espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarelo-esverdeada; fragmentos de epiderme com cutícula estriada de sépalas ou de pétalas papilosas; fragmentos de epiderme com estômatos anomocíticos; células-guarda isoladas; fragmentos de epiderme com tricomas tectores, de diferentes tipos; raros tricomas tectores e glandulares isolados ou partes destes; porções de tecidos com gotas lipídicas; parte de elementos traqueais de espessamento helicoidal; fragmentos de epiderme da antera, extremamente papilosa; fragmentos da camada fibrosa da antera; numerosos grãos de pólen como os descritos; grãos de pólen isolados ou agrupados, ou associados a fragmentos de anteras e à epiderme de diversas peças; porções de estigma com epiderme papilosa; porções de brácteas; porções do bordo de sépalas, de pétalas e de brácteas.

## DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DAS IMPUREZAS

Os pedicelos da própria espécie são considerados estranhos; são esbranquiçados pela dessecação, longitudinalmente sulcados, medindo de 1 mm a 6 mm de comprimento, com tricomas tectores e glandulares.

## DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DAS IMPUREZAS

O pedicelo, em vista frontal, apresenta cutícula estriada, células epidérmicas retangulares, estômatos anomocíticos e na porção basal, tricomas tectores e glandulares; em secção transversal, apresenta proeminências e reentrâncias acentuadas, cutícula estriada, epiderme uniestratificada, com células de forma tabular e paredes periclinais internas espessas; na região cortical pode ocorrer uma camada de colênquima tabular, seguido por um parênquima com amplos espaços intercelulares; o sistema vascular é formado por até doze feixes colaterais, dispostos em forma de anel; a região medular é preenchida por parênquima com células de paredes delgadas; cloroplastídios ocorrem nos parênquimas; grãos de amido e gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos.

## IDENTIFICAÇÃO

**A.** Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel GF<sub>254</sub> com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético e água (100:11:11:27), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

*Solução (1)*: transferir cerca de 0,5 g da droga moída para balão de fundo redondo de 100 mL e adicionar 5 mL de metanol. Aquecer, sob refluxo, por 30 minutos. Filtrar através de papel de filtro.

*Solução (2)*: dissolver quantidade de 5 mg de rutina SQR, hiperosídeo SQR, isoquercitrina SQR e de ácido clorogênico em metanol para obter solução a 1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (366 nm). A mancha fluorescente de coloração azulada obtida com a *Solução (1)*, próximo à frente, refere-se ao ácido clorogênico. Em seguida, nebulizar a placa com solução de anisaldeído sulfúrico e colocar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos. As manchas de coloração violeta obtidas com a *Solução (2)* correspondentes à rutina (com Rf de aproximadamente 0,49), ao hiperosídeo (com Rf de aproximadamente 0,68) e à isoquercitrina (com Rf de aproximadamente 0,72) correspondem em posição e coloração àquelas obtidas com *Solução (1)*. Outras manchas de menor intensidade podem ser observadas.

**B.** Proceder conforme descrito em *Doseamento para Rutina*. O pico majoritário do cromatograma corresponde à rutina; observa-se um pico com tempo de retenção inferior com características de ácido cafeoilquínico e três picos após a rutina, sendo que todos apresentam espectro de absorção no ultravioleta semelhante à rutina.

## ENSAIOS DE PUREZA

**Material estranho (5.4.2.2).** No máximo 8% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos. No máximo 15% da amostra com coloração alterada (enegrecida).

**Água (5.4.2.3).** No máximo 10%.

**Cinzas totais (5.4.2.4).** No máximo 9,4%.

## DOSEAMENTO

### Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* (5.2.14). Preparar as soluções descritas a seguir.

*Solução estoque*: pesar, exatamente, cerca de 0,1 g da droga pulverizada (800 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 0,25 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 10 mL de acetona e 0,5 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura para balão volumétrico de 25 mL. Retomar o resíduo da droga e algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 7 mL de acetona. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar através de algodão para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Repetir a operação, retornando novamente o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 7 mL de acetona e aquecer sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Após resfriamento, à temperatura ambiente, ajustar o volume para 25 mL com acetona. Em funil de separação, adicionar 10 mL desta solução, 10 mL de água e 10 mL de acetato de etila, extrair e repetir o processo por mais duas vezes, porém, utilizando 6 mL de acetato de etila. Reunir as fases de acetato de etila, lavá-las em funil de separação

com duas porções de 15 mL de água e transferi-las para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com acetato de etila.

*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) e completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em metanol.

*Solução branco:* transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em metanol.

Medir a absorvância da *Solução amostra* em 425 nm 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, calculado como quercetina, segundo a expressão:

$$Q = \frac{A \times 15625}{500 \times m \times (100 - Pd)}$$

em que

$Q$  = teor de flavonoides totais, expresso em quercetina (%);

$A$  = absorvância da *Solução amostra*;

$m$  = massa da droga vegetal;

$Pd$  = teor de água (%).

#### Rutina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 356 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

*Eluente A:* mistura de acetonitrila, água e ácido trifluoracético (5:95:0,01).

*Eluente B:* mistura de acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,01).

*Gradiente da Fase móvel:* adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 7	90 → 70	10 → 30	gradiente linear
7 – 8	70 → 0	30 → 100	gradiente linear
8 – 11	0	100	isocrática
11 – 12	0 → 90	100 → 10	gradiente linear
12 – 18	90	10	isocrática

*Solução amostra:* pesar, exatamente, cerca de 0,25 g da droga seca e moída (800 µm), colocar em frasco de vidro e agitar por turbólise, velocidade 3, durante 5 minutos, com 5 mL de etanol a 80% (v/v). Filtrar através de papel de filtro, sob vácuo, para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar através de membrana e diluir 50 µL em 0,95 mL de mistura de acetonitrila e água (1:9).

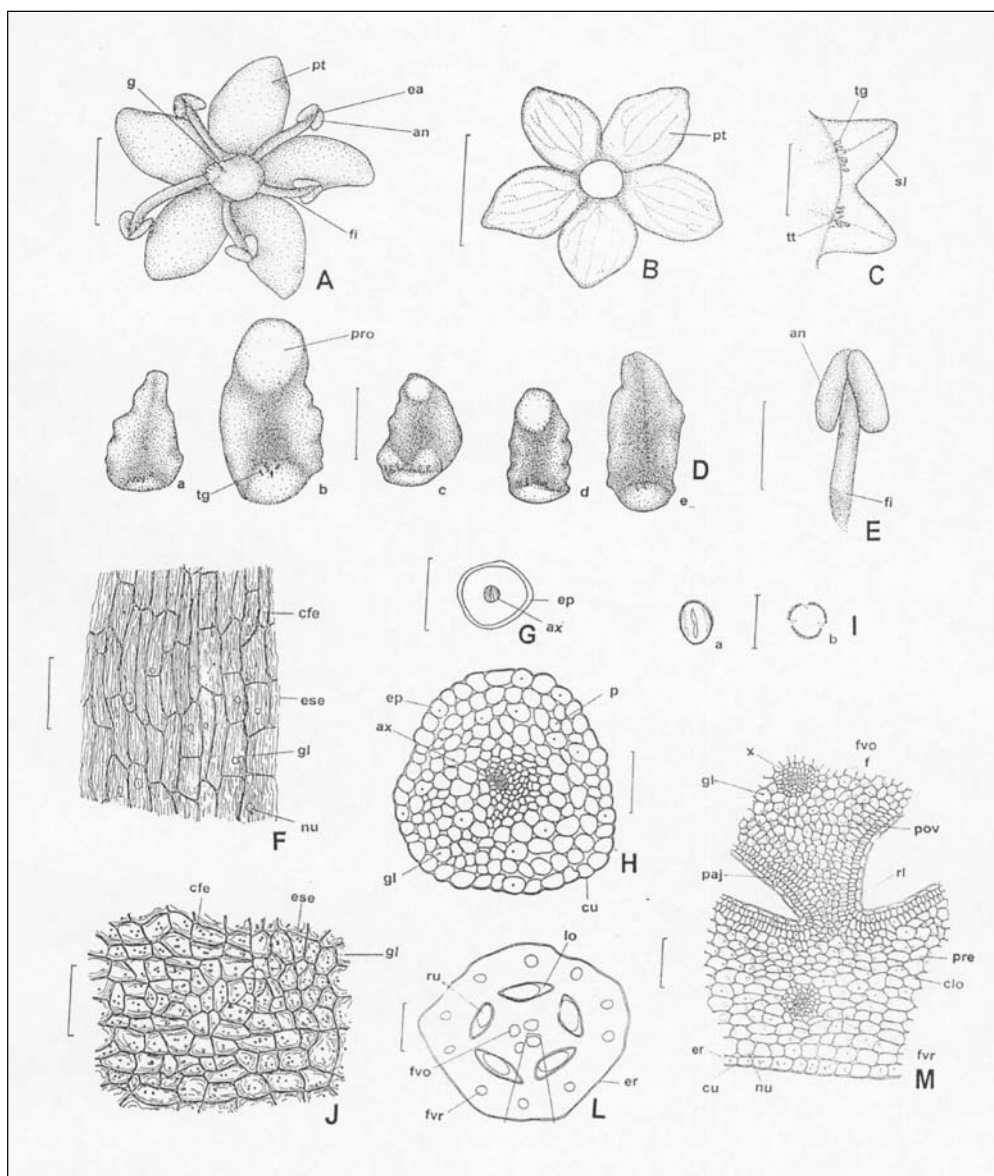
*Solução padrão estoque:* dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de metanol.

*Soluções para curva analítica:* diluir uma alíquota de 2,5 mL da *Solução padrão estoque* em balão volumétrico de 25 mL de modo a obter solução a 50 µg/mL. Diluir alíquotas de 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, 3,5 mL, 4 mL e 4,5 mL em balão volumétrico de 5 mL, com metanol, de modo a obter concentrações de 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL, 35 µg/mL, 40 µg/mL e 45 µg/mL.

*Procedimento:* injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para curva analítica* e da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção é de aproximadamente 5 minutos para a rutina. Calcular o teor de rutina na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de rutina por 100 gramas da droga (%), considerando o teor de água.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

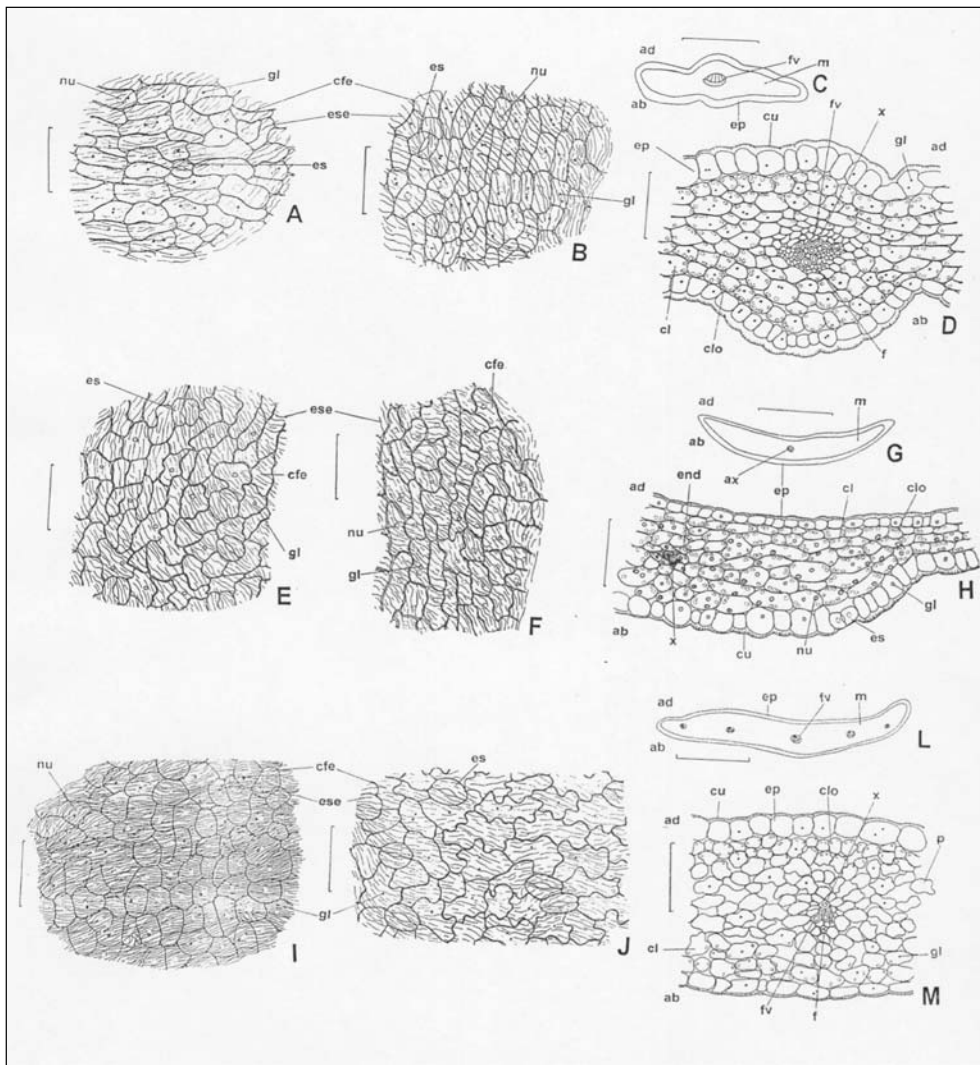
Em recipiente de vidro bem fechado, ao abrigo da luz, calor e umidade.



**Figura 1** – Aspectos macroscópicos e microscópicos de *Sambucus australis* Cham. & Schldl.

Complemento da legenda da **Figura 1**. As régua correspondem em **A** e **E** a 2,5 mm; em **B** a 5 mm; em **C** e **D** a 1,0 mm; em **F**, **H**, **J** e **M** a 100 µm; em **G** e **L** a 400 µm; em **I** a 30 µm.

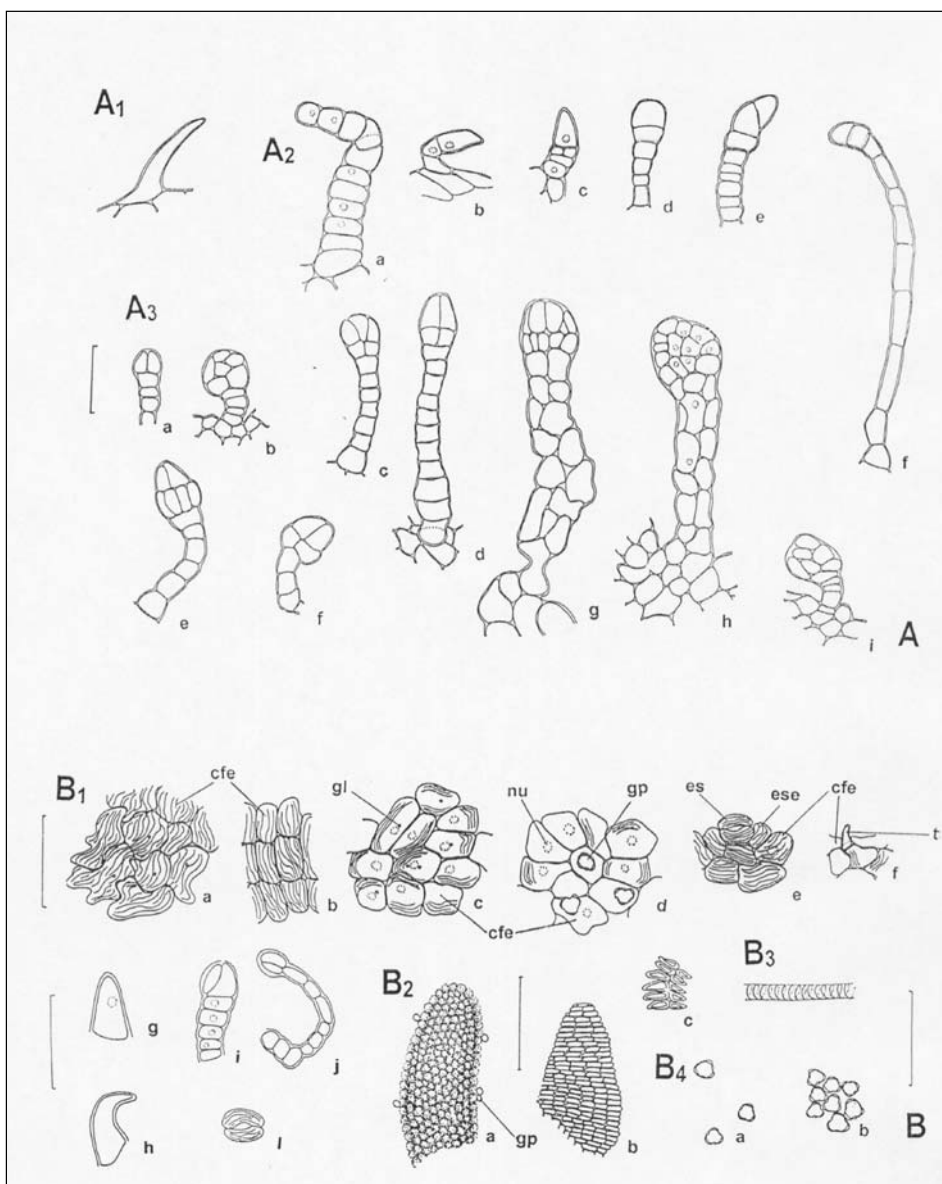
**A** – aspecto geral da flor estaminada, em vista frontal: antera (an); estame (ea); filete (fi); gineceu (g); pétala (pt). **B** – aspecto geral da corola desprendida, em vista frontal: pétala (pt). **C** – aspecto geral de parte do cálice, mostrando a face adaxial de duas sépalas, em vista frontal: sépala (sl); tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** – aspecto geral da face adaxial de brácteas, em vista frontal, evidenciando suas distintas formas: bráctea triangular (a); brácteas elípticas (b, c); brácteas oblongas (d, e); proeminência apical (pro); tricoma glandular (tg). **E** – aspecto geral do estame em posição lateral: antera (an); filete (fi). **F** – detalhe de porção da epiderme do filete, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **G** – esquema geral do filete, em secção transversal: epiderme (ep); agrupamento xilemático (ax). **H** – detalhe do filete em secção transversal: agrupamento xilemático (ax); cutícula estriada (cu); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p). **I** – esquema geral grão de pólen: vista polar (a); vista equatorial (b). **J** – detalhe de porção da epiderme de receptáculo, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **L** – esquema geral do receptáculo e do ovário, em secção transversal: epiderme do receptáculo (er); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); lóculo (lo); rudimento seminal (ru); cutícula estriada (cu); cloroplastídeo (clo); epiderme do receptáculo (er); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); gota lipídica (gl); núcleo (nu); parênquima de células justapostas (paj); parênquima do ovário (pvo); parênquima do receptáculo (pre); revestimento do lóculo (rl); xilema (x).



**Figura 2** – Aspectos microscópicos de *Sambucus australis* Cham. & Schtdl.

Complemento da legenda da **Figura 2**. As réguas correspondem em **A, B, D, E, F, H, I, J e M** a 100 µm; em **C e G** a 400 µm; em **L** a 800 µm.

**A** – detalhe de porção da face adaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **B** – detalhe de porção da face abaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **C** – esquema geral da bráctea, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); feixe vascular (fv); mesofilo (m). **D** – detalhe da região da nervura principal da bráctea, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); xilema (x). **E** – detalhe de porção da face adaxial da epiderme da sépala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **F** – detalhe de porção da face abaxial da epiderme da sépala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **G** – esquema geral da sépala, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep); mesofilo (m). **H** – detalhe de porção da sépala, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); endoderme (end); epiderme (ep); estômato (es); gota lipídica (gl); núcleo (nu); xilema (x). **I** – detalhe de porção da face adaxial da epiderme da pétala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **J** – detalhe de porção da face abaxial da epiderme da pétala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl). **L** – esquema geral da pétala, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); feixe vascular (fv); mesofilo (m). **M** – detalhe de porção da pétala, na região da nervura principal, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); parênquima (p); xilema (x).



**Figura 3** – Aspectos microscópicos de *Sambucus australis* Cham. & Schtdl.

Complemento da legenda da **Figura 3**. As régua correspondem em **A**, **B<sub>1</sub>**, **B<sub>2</sub>** c e em **B<sub>3</sub>** a **B<sub>5</sub>** a 100 µm; em **B<sub>2</sub>** a e b a 400 µm.

**A** – detalhe de tricomas ocorrentes em brácteas, sépalas e pétalas: **A<sub>1</sub>** = tricoma tector unicelular; **A<sub>2</sub>** = tricomas tectores pluricelulares; **A<sub>3</sub>** = tricomas glandulares. **B** – detalhes do pó. **B<sub>1</sub>** = porções de epiderme (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, l): fragmentos de epiderme em vista frontal (a, b, c, d, e) e em vista lateral (f), porções de tricomas tectores (g, h), porções de tricomas glandulares com cabeça pluricelular (i, j), células-guarda isoladas (l); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); grão de pólen (gp); núcleo (nu); tricoma tector (tt). **B<sub>2</sub>** = fragmentos da antera: porção convexa (a), porção côncava (b), fragmento da camada fibrosa de antera (c); grão de pólen (gp). **B<sub>3</sub>** = porção de elemento traqueal com espessamento helicoidal. **B<sub>4</sub>** = grãos de pólen: isolados (a), agrupados (b).