

SABUGUEIRO-DO-BRASIL, flor

Sambucus australis flos

A droga vegetal consiste de flores secas de *Sambucus australis* Cham. & Schltdl., contendo, no mínimo, 2,0% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 0,80% de rutina.

CARACTERÍSTICAS

As flores secas têm odor leve e aromático característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores amareladas pela dessecação, pentâmeras ou tetrâmeras, estaminadas, com estames longos ou pistiladas, com estames curtos, medindo 7 a 10 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 a 3 mm de diâmetro. Cálice com sépalas amarelo-esverdeadas, triangular-ovaladas, medindo 1,0 a 1,5 mm de comprimento e 1 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 amarelada, rotada, com pétalas soldadas entre si na base em um curto tubo. Pétalas ovaladas a elípticas, de ápice retrorso, medindo 2,5 a 5,0 mm de comprimento e 1,5 a 3,0 mm de largura. Androceu formado por cinco ou quatro estames, 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, de coloração amarela, com 1 mm de comprimento. Filetes glabros e cilíndricos, curtos nas flores pistiladas, com 1 a 2 mm de comprimento e longos nas flores estaminadas, com 3 a 4 mm de comprimento. Ovário ínfero, soldado ao tubo calicino, pentacarpelar ou tetracarpelar, raro tricarpelar, pentalocular ou tetralocular, raro trilocular, com carpelos bem demarcados, 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.

B. Descrição microscópica

Brácteas, sépalas e pétalas são anfiestomáticas, hipoestomáticas e anfi-hipoestomáticas respectivamente; os estômatos são do tipo anomocítico; em vista frontal, a cutícula apresenta estrias; tricomas tectores e glandulares ocorrem na base da face adaxial; em secção transversal, a cutícula é estriada, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo é homogêneo; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos, exceto no xilema. Idioblastos de oxalato de cálcio ausentes. Nas pétalas ocorrem cinco, raro quatro nervuras paralelas, as secundárias partindo da principal, ramificadas ou não; a epiderme apresenta células papilosas, menos proeminentes nas regiões dos bordos; grãos de amido elipsoides estão presentes no mesofilo. O filete, em vista frontal, possui cutícula estriada. 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 a 34 µm de diâmetro, com superfície reticulada. 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; o parênquima mais interno é desprovido de cloroplastídios; as células epidérmicas do estigma são extremamente papilosas. Difere de *Sambucus nigra* por esta apresentar idioblastos de aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina visíveis nas brácteas, sépalas e pétalas, além de geralmente três carpelos no ovário.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para as flores desta espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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.

D. Descrição macroscópica das impurezas

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

E. 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, seguida geralmente por uma camada de colênquima tabular, seguido por um parênquima com amplos espaços intercelulares; o sistema vascular é formado por até 12 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.

F. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1).

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metiletilcetona, água, ácido fórmico anidro (50:30:10:10)

Solução amostra: transferir 0,5 g da amostra moída (355) para um béquer e adicionar 5 mL de metanol. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 x g por 5 minutos.

Solução referência: dissolver 1 mg de ácido cafeico, 1 mg de ácido clorogênico, 2,5 mg de hiperosídeo e 2,5 mg de rutina em 10 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na placa, separadamente, 4 µL da *Solução amostra* e 4 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 6 cm. Remover a placa e deixar secar ao ar. Aquecer em estufa a 100 °C por 5 minutos e nebulizar com uma solução de ácido difenilbórico aminoetil éster a 1g/L em acetato de etila, em seguida com uma solução de macrogol 400 a 5 g/L em cloreto de metileno. Deixar secar por 30 minutos. Examinar sob a luz do dia e a seguir sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz do dia e sob a luz ultravioleta em 365 nm, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja
Rutina: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração amarelo escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul fluorescente intensa 2 zonas de coloração azul fluorescente intensa
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja fluorescente
Ácido Clorogênico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul fluorescente intensa
Rutina: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja fluorescente
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

G. 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.

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 8% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos. No máximo, 15% da amostra com coloração alterada (enegrecida).

Água (5.4.1.4). No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9,5%.

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.

Metais pesados. (5.4.5). Cumpre 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 descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, 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 em algodão para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Repetir a operação, retornando 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, completar o volume com acetona e homogeneizar. Para funil de separação, transferir 10 mL dessa 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 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 e homogeneizar.

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

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.

Procedimento: 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, expresso como quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{A \times 15625}{500 \times m \times (100 - P_d)}$$

em que,

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

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da droga vegetal; e

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.

Fase móvel (1): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5: 0,01).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,01).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1) %</i>	<i>Fase móvel (2) %</i>	Sistema de eluição
0 – 7	90→70	10→30	gradiente linear
7 – 8	70→0	30→100	gradiente linear
8 – 11	0	100	isocrático
11 – 12	0→90	100→10	gradiente linear
12 – 18	90	10	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, 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 em papel de filtro, sob vácuo, para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar em membrana e diluir 50 µL em 0,95 mL de mistura de acetonitrila e água (1:9). Homogeneizar.

Solução referência: dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de metanol.

Soluções para curva analítica: diluir uma alíquota de 2,5 mL da *Solução referência* 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 10 µL 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 hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

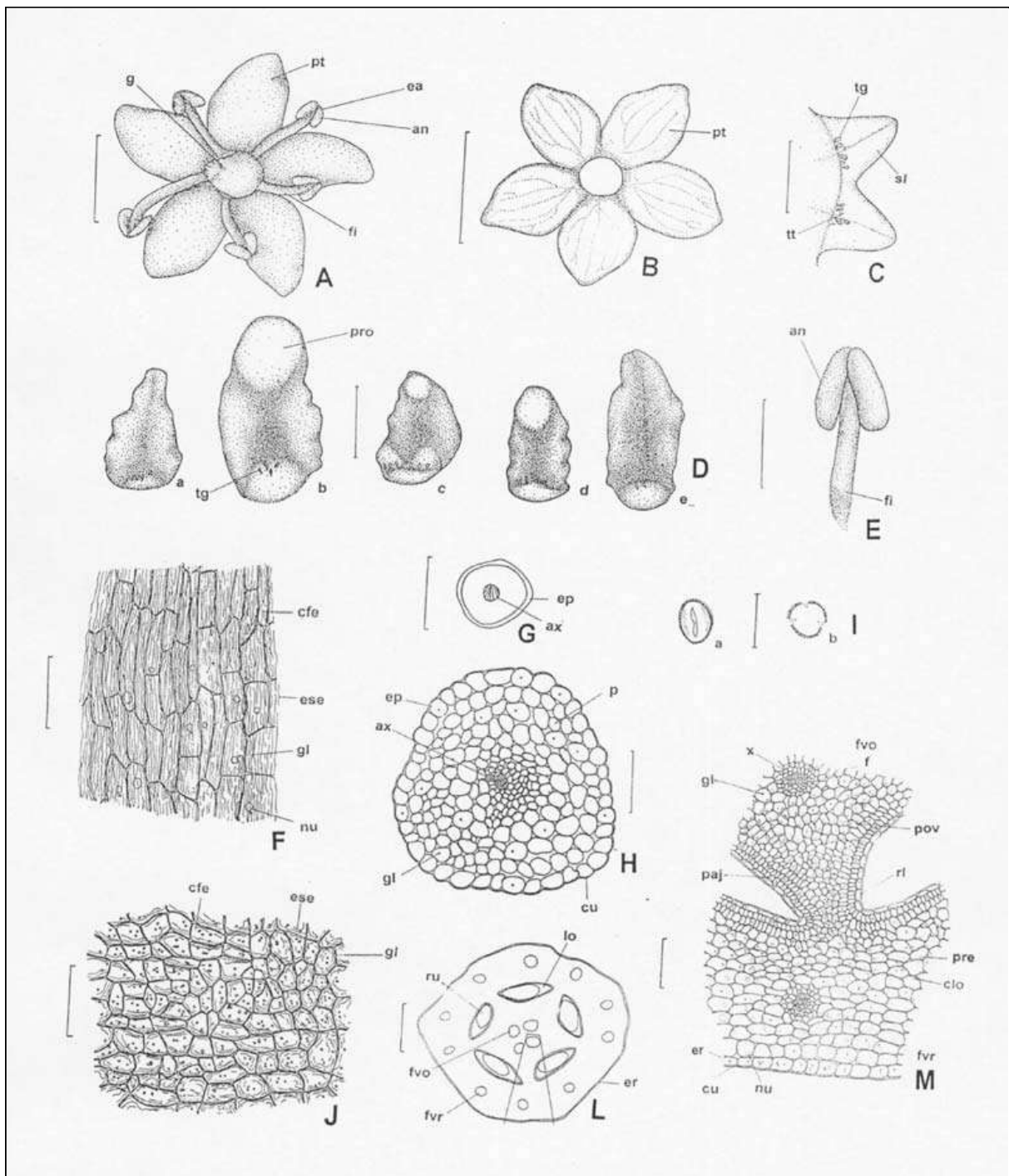


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schtdl.

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); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p); cutícula (cu). **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). **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). **M** – detalhe de porção do receptáculo e do ovário, em secção transversal, conforme destacado em **L**: cutícula estriada (cu); cloroplastídio (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).

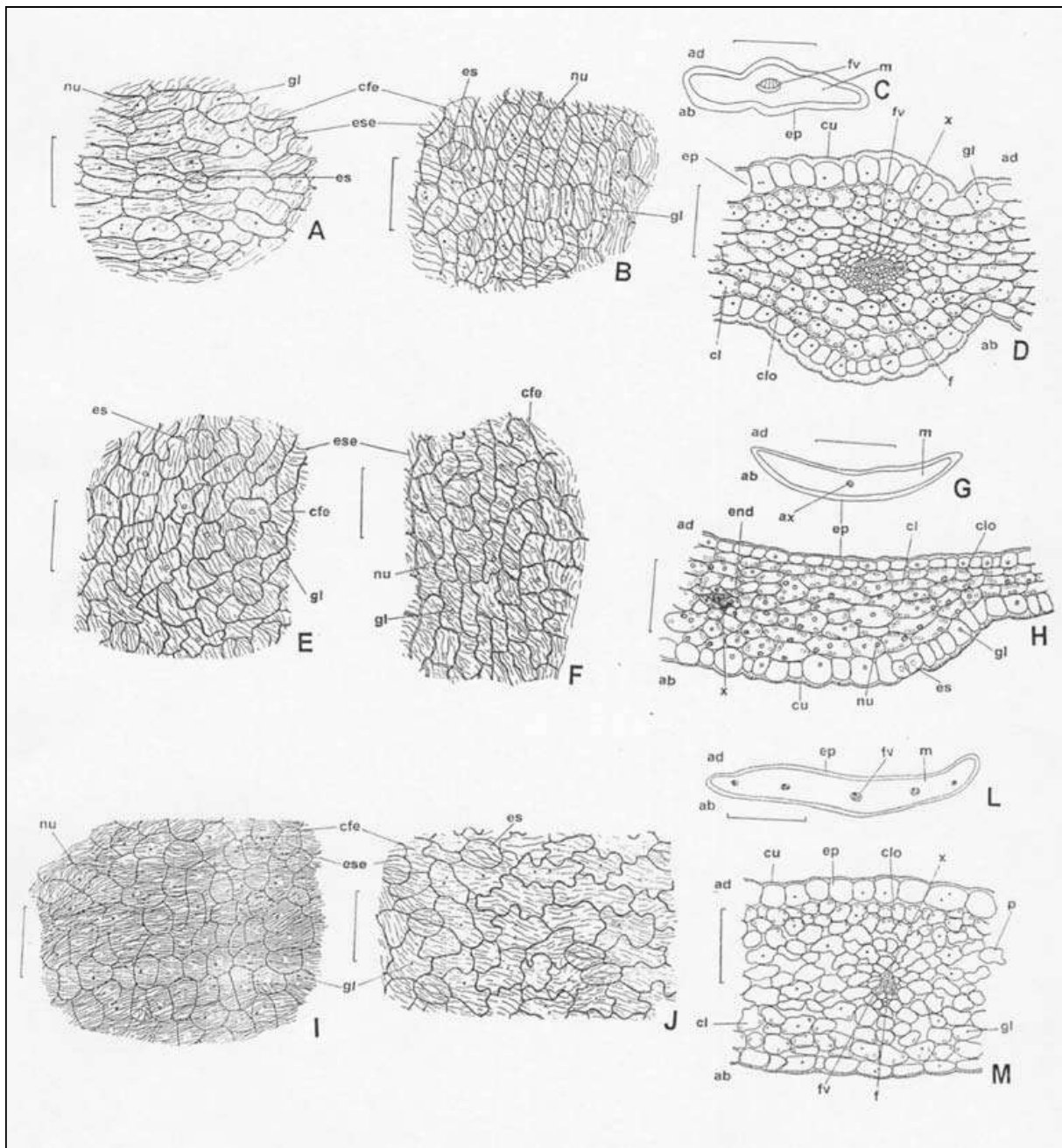


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schldl.

As régua 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).

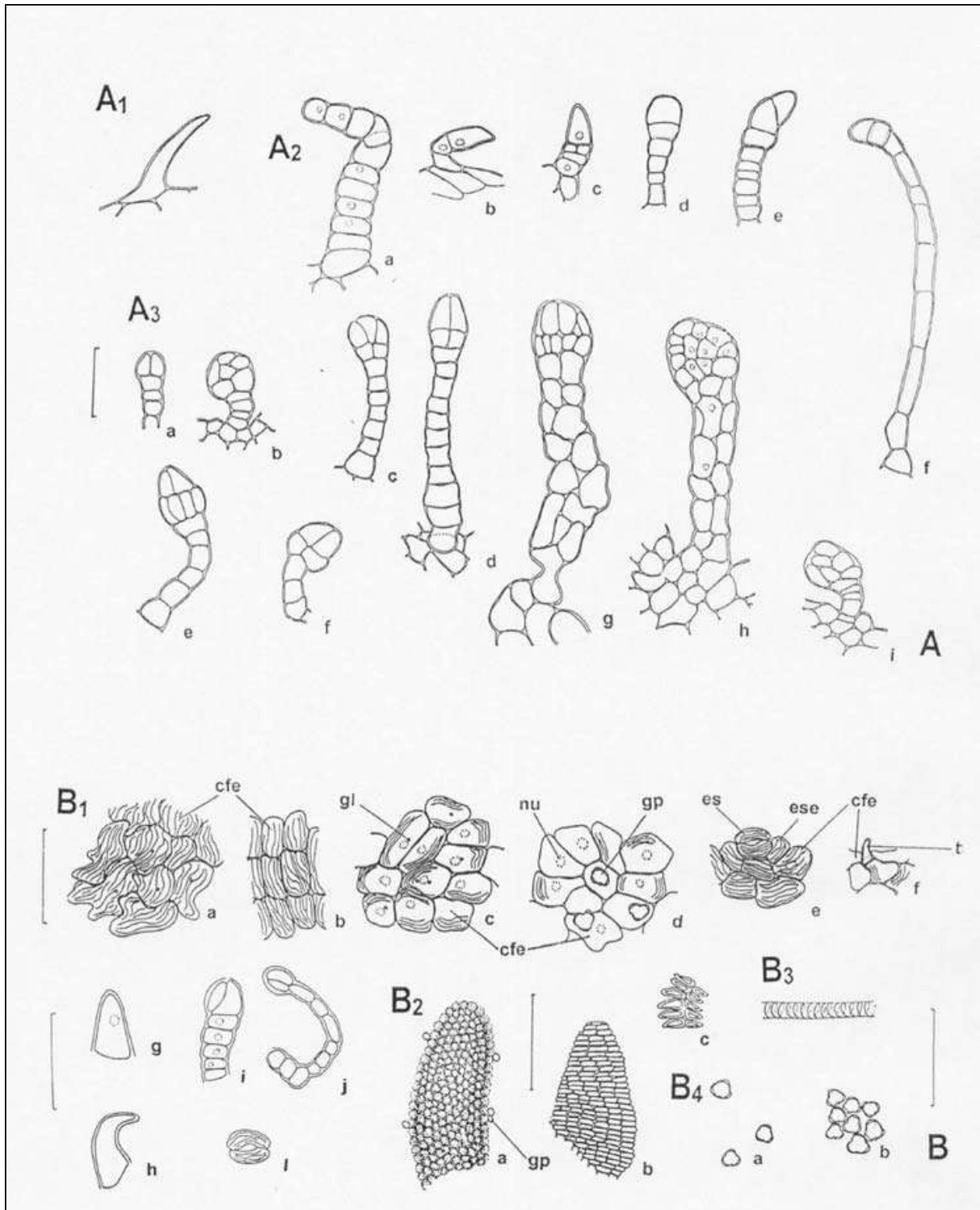


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schldl.

As régua correspondem em **A**, **B1**, **B2 c** e em **B3 a B5 a** 100 µm; em **B2 a e b** a 400 µm.

A – detalhe de tricomas ocorrentes em brácteas, sépalas e pétalas: **A1** = tricoma tector unicelular; **A2** = tricomas tectores pluricelulares; **A3** = tricomas glandulares. **B** – detalhes do pó. **B1** = porções de epiderme (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, l):