

## SABUGUEIRO

### *Sambucus nigra* flos

*Sambucus nigra* L. - CAPRIFOLIACEAE

A droga vegetal é constituída das flores secas contendo, no mínimo, 1,5% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 1% de rutina.

#### CARACTERÍSTICAS

**Características organolépticas.** As flores secas tem odor fraco e aromático característico; sabor fracamente amargo.

#### DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Flores secas, amareladas pela dessecação, pentâmeras ou tetrâmeras, diclamídeas, gamopétalas, actinomorfas, hermafroditas, medindo 3,0 mm a 5,0 mm de diâmetro, cada uma apresentando até três diminutas brácteas verdes, distribuídas no pedicelo, receptáculo e/ou base do cálice, em diferentes alturas, visíveis com lente de aumento. Brácteas pouco papilosas, com tricomas tectores e glandulares na face adaxial, com dentes marginais unicelulares. Botões florais globosos, esbranquiçados ou amarronzados, medindo 1,5 mm a 3,0 mm de diâmetro. Cálice com sépalas esbranquiçado-amareladas, esverdeadas ou amarronzadas, triangulares, medindo 0,5 mm a 1,2 mm de comprimento e 0,5 mm a 0,7 mm de largura na porção basal, levemente soldadas entre si na base e com dentes marginais unicelulares. Corola rotada, branco-amarelada a amarelo-claro, de pré-floração imbricada, com pétalas soldadas entre si na base em um curto tubo. Pétalas ovaladas a elípticas, de ápice retrorso, arredondado, medindo 2,0 mm a 3,5 mm de comprimento e 2,0 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, dispostos alternadamente às pétalas, com filetes aderidos ao tubo da corola. Anteras ditecas, extrorsas, dorsifixas, oblongas, deiscentes, de coloração amarela, com 1,0 mm de comprimento. Filetes glabros e cilíndricos, de 1,0 mm a 1,5 mm de comprimento. Ovário ínfero, soldado ao tubo calicino, tricarpelar, raro tetracarpelar, trilocular, raro tetralocular, 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 trilobado. Um disco anelado e proeminente envolve a base do gineceu.

#### DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Brácteas hipostomáticas, estômatos do tipo anomocítico, mesofilo homogêneo; em vista frontal, a cutícula apresenta estrias que acompanham o eixo maior das células epidérmicas, as quais contêm algumas gotas lipídicas esféricas; tricomas tectores e glandulares ocorrem por toda a lâmina e principalmente na base da face adaxial;

raros idioblastos de aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina são visíveis; 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 geralmente é composto por um único agrupamento xilemático, o qual pode estar envolto por endoderme, sem ou com poucos cloroplastídios; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos, exceto no xilema. Receptáculo, em vista frontal, com cutícula estriada; 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 anfiestomáticas, 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 retilíneas ou quase; tricomas tectores e glandulares são visíveis, além de idioblastos de aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina; em secção transversal, a epiderme é uniestratificada, o mesofilo é homogêneo, formado por até cinco 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-hipostomáticas, com estômatos do tipo anomocítico, e com três, raro quatro nervuras paralelas, as secundárias partindo da principal, ramificadas ou não; tricomas tectores e glandulares ocorrem principalmente na face adaxial; idioblastos de aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina, são visíveis em ambas as faces; a cutícula, em vista frontal, é mais estriada na face abaxial, e menos estriada na face adaxial; a epiderme é uniestratificada, com células papilosas, papilas menos proeminentes nas regiões dos bordos; o mesofilo é homogêneo, formado por até dez 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. O filete, em vista frontal, possui 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 bastante 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 15 µm a 25 µm de diâmetro, com superfície reticulada, em vista polar arredondado e em vista equatorial elipsoidal. O gineceu é formado por três carpelos, raro quatro 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 MACROSCÓPICA DAS IMPUREZAS

Os pedicelos da própria espécie são considerados estranhos; são esbranquiçados pela dessecação, longitudinalmente sulcados, medindo 1,0 mm a 7,0 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 ocorre uma a seis camadas de colênquima tabular, seguido por um parênquima com amplos espaços intercelulares; o sistema vascular é formado por até dezesseis feixes colaterais, dispostos em forma de anel; a região medular é preenchida por parênquima com células de paredes delgadas; cloroplastídios ocorrem nos parênquimas; gotas lipídicas ocorrem na epiderme e no parênquima cortical; grãos de amido são observados na endoderme e no floema.

## 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 sépalas com dentes marginais unicelulares isolados; fragmentos de epiderme de sépalas e de pétalas papilosas e com cutícula estriada; 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; fragmentos de parênquima; porções de tecidos com gotas lipídicas; parte de elementos traqueais de espessamento helicoidal; fragmentos da epiderme de antera, extremamente papilosa; fragmentos da camada fibrosa de antera; numerosos grãos de pólen como descritos; grãos de pólen isolados ou agrupados, ou associados a fragmentos de anteras e de epiderme de diversas peças; porções de estigma com epiderme papilosa; porções de brácteas; porções do bordo de sépalas, de pétalas e de brácteas.

## 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 fase estacionária e mistura de acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético e água (100:11:11:27) como fase móvel. Aplicar, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução (1)* e 10 µL da

*Solução (2)*, preparadas recentemente, como descrito a seguir.

*Solução (1)*: transferir cerca de 0,5 g da droga moída para balão de fundo redondo de 100 mL, 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, 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 (365 nm). No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, próximo a frente, aparece uma mancha fluorescente de coloração azulada referente ao ácido clorogênico. Em seguida, nebulizar a placa com anisaldeído SR e colocar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos. O cromatograma obtido com a *Solução (2)* apresenta manchas de coloração violeta correspondente a rutina (Rf aproximadamente 0,49), hiperosídeo (Rf aproximadamente 0,68) e isoquercitrina (Rf aproximadamente 0,72). O cromatograma obtido com a *Solução (1)* apresenta manchas similares na posição e coloração às manchas obtidas no cromatograma da *Solução (2)*. Outras manchas de menor intensidade podem ser observadas.

**B.** Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar o sistema descrito em *Doseamento* para *Rutina*. O pico majoritário do cromatograma corresponde à rutina; observa-se um pico em tempo de retenção inferior com características de ácido cafeoilquínico e quatro picos após a rutina, sendo que os dois imediatamente após têm espectro de absorção no ultravioleta semelhante à rutina e, mais dois seguintes, com espectro de absorção característica de ácido cafeoilquínico.

## ENSAIOS DE PUREZA

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

**Água** (5.4.2.3). No máximo 11%.

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

## DOSEAMENTO

### Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível* (5.2.14). Preparar as soluções com descrito 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 0,5%, 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 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 e 10 mL de água e após extrair com 10 mL de acetato de etila; repetindo-se por duas vezes, com porções de 6 mL de acetato etila. Reunir as fases de acetato de etila, em funil de separação, e lavá-las com duas porções de 15 mL de água. Transferir, a fase orgânica, a seguir para balão volumétrico de 25 mL, completando o volume com acetato de etila.

*Solução amostra:* transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em metanol 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 (5.2.14) 30 minutos após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para 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;

$Pd$  = determinação 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 (3 a 10  $\mu\text{m}$ ), coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4  $\mu\text{m}$ ), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

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

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

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

Tempo (minutos)	Eluente A (%)	Eluente B (%)	Eluição
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  $\mu\text{m}$ ) e colocar em frasco de vidro, 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  $\mu\text{L}$  em 950  $\mu\text{L}$  de acetonitrila:água (1:9).

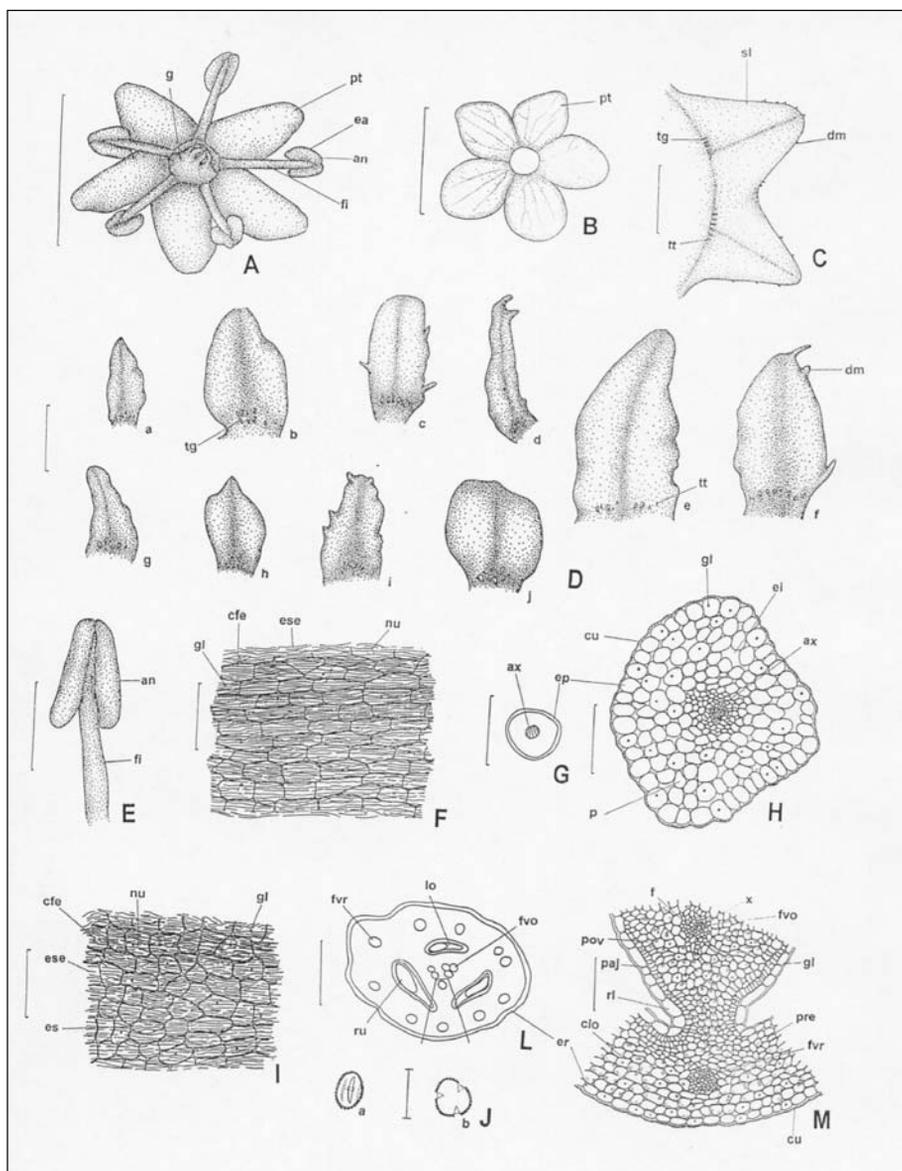
*Solução padrão estoque:* dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de metanol.

*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  $\mu\text{g/mL}$ . 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  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 20  $\mu\text{g/mL}$ , 25  $\mu\text{g/mL}$ , 30  $\mu\text{g/mL}$ , 35  $\mu\text{g/mL}$ , 40  $\mu\text{g/mL}$  e 45  $\mu\text{g/mL}$ .

*Procedimento:* injetar, separadamente, 10  $\mu\text{L}$  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 o 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

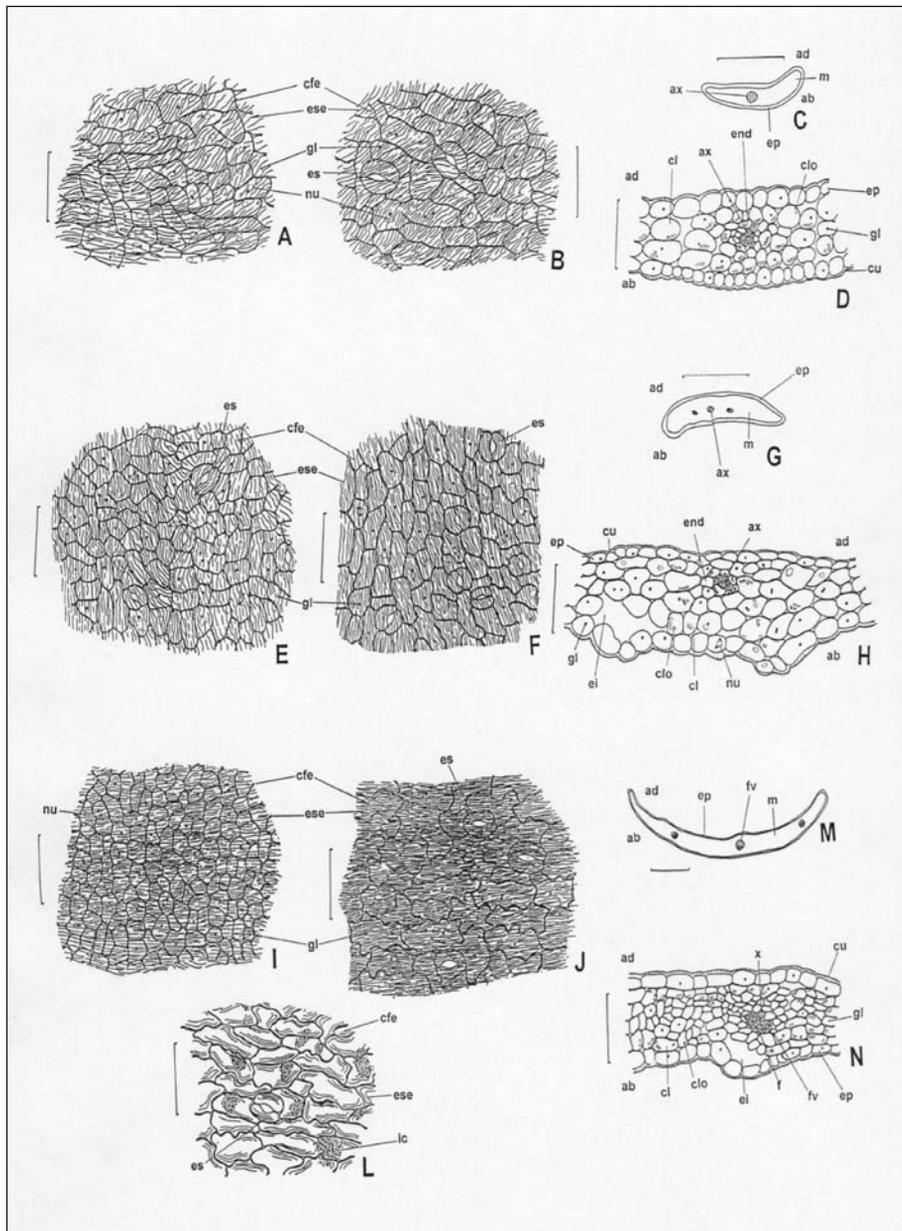
Em recipiente de vidro bem fechado, ao abrigo da luz, calor e umidade.



**Figura 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos de *Sambucus nigra* L.**

Complemento da legenda da **Figura 1**. As réguas correspondem em **A** a 3,0 mm; em **B** e **E** a 5,0 mm; em **C** a 1,0 mm; em **D** e **G** a 0,4 mm; em **F**, **H**, **I** e **M** a 100  $\mu$ m; em **J** a 30  $\mu$ m; em **L** a 400  $\mu$ m.

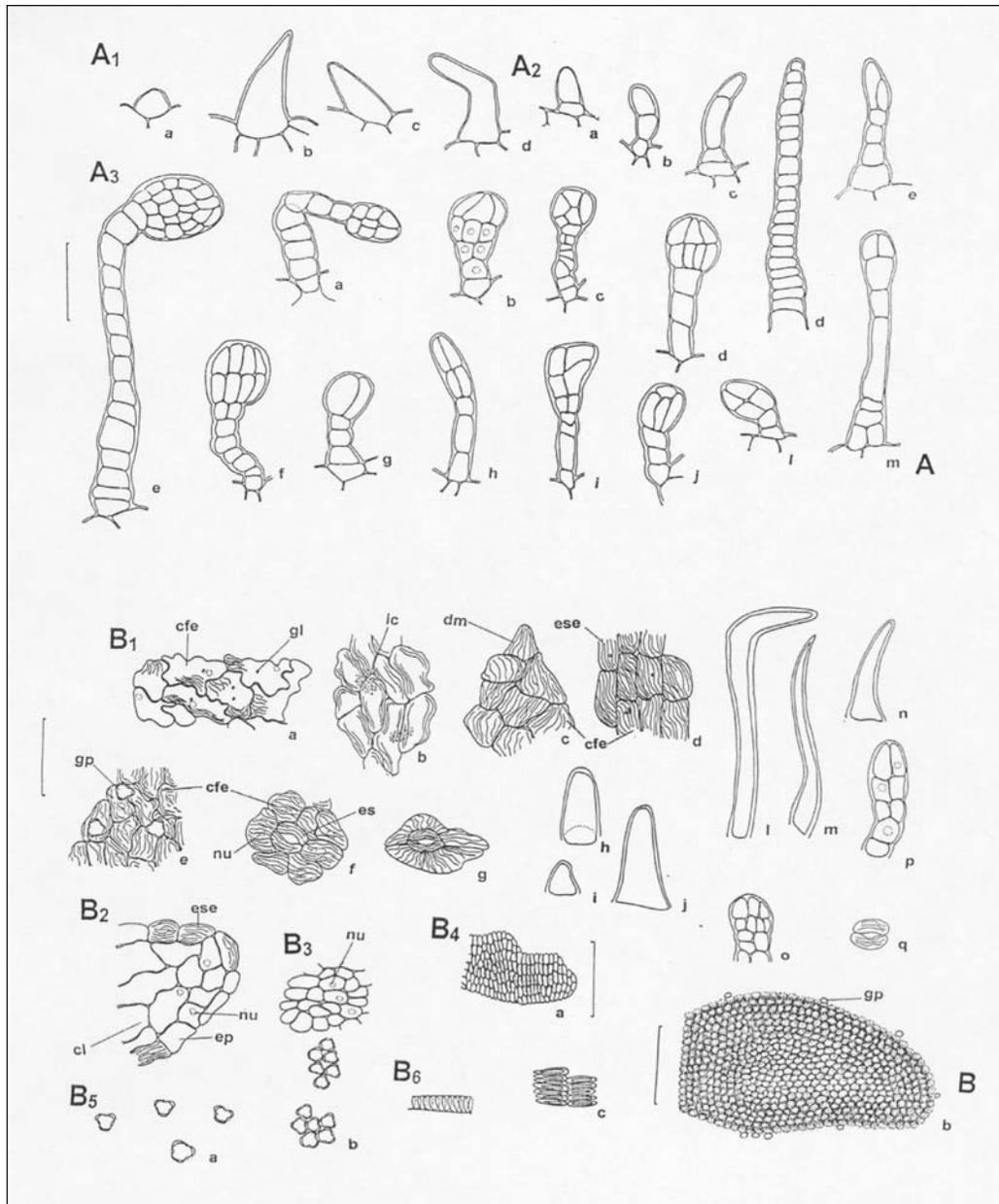
**A** - aspecto geral da flor, em vista frontal; antera (an); estame (ea); filete (fi); gineceu (g); pétala (pt). **B** - aspecto geral da corola desprendida, em vista frontal; pétala (pt). **C** - aspecto geral de parte do cálice, em vista frontal; dente marginal (dm); sépala (sl); tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** - aspecto geral da face adaxial de brácteas, em vista frontal, evidenciando suas distintas formas: (a, b, e, f, i) brácteas elípticas; (c) bráctea oblonga; (d) bráctea laminar; (g) bráctea triangular; (h, j) brácteas obovado-elípticas; (dm) dente marginal; (tg) tricoma glandular; (tt) tricoma tector. **E** - aspecto geral do estame em posição lateral; (na) antera; (fi) filete. **F** - detalhe de porção da epiderme do filete, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (esse); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **G** - esquema geral do filete, em secção transversal; agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep). **H** - detalhe do filete em secção transversal; agrupamento xilemático (ax); cutícula estriada (cu); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p). **I** - detalhe de porção da epiderme do receptáculo, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (esse); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **J** - esquema geral do grão de pólen; a: vista polar; b: vista equatorial. **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; cloroplastídios (clo); cutícula estriada (cu); epiderme do receptáculo (er); floema (f); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); gota lipídica (gl); 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 nigra* L.

Complemento da legenda da **Figura 2**. As régulas correspondem em **A, B, D, E, F, H, I-L** e **N** a 100  $\mu$ m; em **C, G** e **M** 0,4 mm.

**A** - detalhe de porção da face adaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (esse); 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); agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep); mesofilo (m). **D** - detalhe da região da nervura principal da bráctea, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula (cu); endoderme (end); epiderme (ep); gota lipídica (gl). **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). **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). **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 na região da nervura principal, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); espaço intercelular (ei); endoderme (end); epiderme (ep); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **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** - detalhe de porção da face abaxial da epiderme da pétala, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); idioblasto cristalífero (ic). **M** - esquema geral da pétala, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); feixe vascular (fv); mesofilo (m). **N** - 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); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); xilema (x).



**Figura 3 - Aspectos microscópicos do pó de *Sambucus nigra* L.**

Complemento da legenda da **Figura 3**. As régua correspondem em **A e B (B1 - B3, B4c-B6)** a 100  $\mu\text{m}$ ; em **B (B4a e b)** a 400  $\mu\text{m}$ .

**A** - detalhe de tricomas ocorrentes em brácteas, sépalas e pétalas; **A1**. tricomas tectores unicelulares; **A2**. tricomas tectores pluricelulares; **A3**. tricomas glandulares. **B** - detalhes do pó. **B1**. (a-q) porções de epiderme; (a-g) fragmentos de epiderme, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); dente marginal (dm); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); grão de pólen (gp); idioblasto cristalífero (ic); núcleo (nu); (h-j) porções de tricomas tectores unicelulares; (l-n) porções de dentes marginais; (o-p) porções de tricomas glandulares com cabeça pluricelular; (q) células-guarda isoladas; **B2**. porção de bordo da pétala; epiderme (ep); estrias epicuticulares (ese); clorênquima (cl); núcleo (nu); **B3**. fragmento de parênquima; núcleo (nu); **B4**. fragmentos de antera; (a) porção côncava; (b) porção convexa; (c) fragmento da camada fibrosa da antera; grão de pólen (gp); **B5**. grãos de pólen; (a) isolados; (b) agrupados; **B6**. porção de elemento traqueal com espessamento parietal helicoidal.