

## **SABUGUEIRO, flor**

### *Sambucus nigra flos*

A droga vegetal consiste de flores secas de *Sambucus nigra* L., contendo, no mínimo, 1,5% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 1,0% de rutina.

#### **CARACTERÍSTICAS**

As flores secas têm odor fraco e aromático característico.

#### **IDENTIFICAÇÃO**

##### **A. Descrição macroscópica**

Flores amareladas pela dessecação, pentâmeras ou tetrâmeras, hermafroditas, medindo 3 a 5 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 a 3 mm de diâmetro. Cálice com sépalas esbranquiçado-amareladas, esverdeadas ou amarronzadas, triangulares, medindo 0,5 a 1,2 mm de comprimento e 0,5 a 0,7 mm de largura na porção basal, levemente soldadas entre si na base e com dentes marginais unicelulares. Corola amarelada, rotada, com pétalas soldadas entre si na base em um curto tubo. Pétalas ovaladas a elípticas, de ápice retrorso, medindo 2 a 3,5 mm de comprimento e 2 a 3 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, de coloração amarela, com 1 mm de comprimento. Filetes glabros e cilíndricos, de 1 a 1,5 mm de comprimento. Ovário ínfero, soldado ao tubo calicino, tricarpelar, raro tetracarpelar, trilocular, raro tetralocular, com carpelos bem demarcados, 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.

##### **B. Descrição microscópica**

Brácteas, sépalas e pétalas são hipoestomáticas, anfiestomáticas e anfi-hipoestomáticas respectivamente; os estômatos são do tipo anomocítico; em vista frontal, a cutícula apresenta estrias; tricomas tectores e glandulares ocorrem principalmente 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 aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina são visíveis nas três peças. Nas pétalas ocorrem três, 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 pontuações evidentes. O grão de pólen é prolato, tricolporado, com 15 a 25 µm de diâmetro, com superfície reticulada. O gineceu é formado por três, raro quatro 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 australis* por essa não apresentar

idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio nas brácteas, sépalas e pétalas, além de geralmente cinco carpelos no ovário.

### C. Descrição macroscópica das impurezas

Os pedicelos da própria espécie são considerados matéria estranha; são esbranquiçados pela dessecação, longitudinalmente sulcados, medindo 1 a 7 mm de comprimento, com tricomas tectores e glandulares.

### D. 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 16 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.

### E. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para as flores dessa 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 desses; 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.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel GF<sub>254</sub> (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 pulverizada (355 µm) 5.2.11 para um béquer e adicionar 5 mL de álcool metílico. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 × g por cinco 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 álcool metílico.

*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 cinco 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% 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:* nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido cafeico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul-fluorescente intensa
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Duas zonas de coloração azul-fluorescente intensa 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
<b><i>Solução referência</i></b>	<b><i>Solução amostra</i></b>

**G.** 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, os dois seguintes, com espectro de absorção característica de ácido cafeoilquínico.

## TESTES

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo, 8,0% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos, e, no máximo, 15% da amostra com cor alterada (enegrecida).

**Perda por dessecação (5.2.9.1).** *Método gravimétrico.* No máximo 11,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 9,0%.

**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 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) e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 0,25 mL de solução aquosa de metenamina 0,5% (v/v), 10 mL de acetona e 0,5 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Retornar 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 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, completar o volume com acetona e homogeneizar. Em funil de separação, adicionar 10 mL dessa solução, 10 mL de água e, a seguir, extrair com 10 mL de acetato de etila. Repetir a extração mais duas vezes, com porções de 6 mL de acetato etila cada uma. 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, 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 cloreto de alumínio a 2% (p/v) em álcool metílico, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em álcool metílico e homogeneizar.

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

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

$$TF = \frac{A \times 156,25}{m \times 500}$$

em que,

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

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

156,25 = fator de diluição;

500 = coeficiente de absorção específica da quercetina;

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

### 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 µm), coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/ minuto.

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

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

<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, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga seca e pulverizada (800 µm) (5.2.11) e colocar em frasco de vidro. Agitar, por turbólise, velocidade 3, durante cinco minutos com 5 mL de álcool etílico 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. Diluir 50 µL em 950 µL de mistura de acetonitrila e água (1:9) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

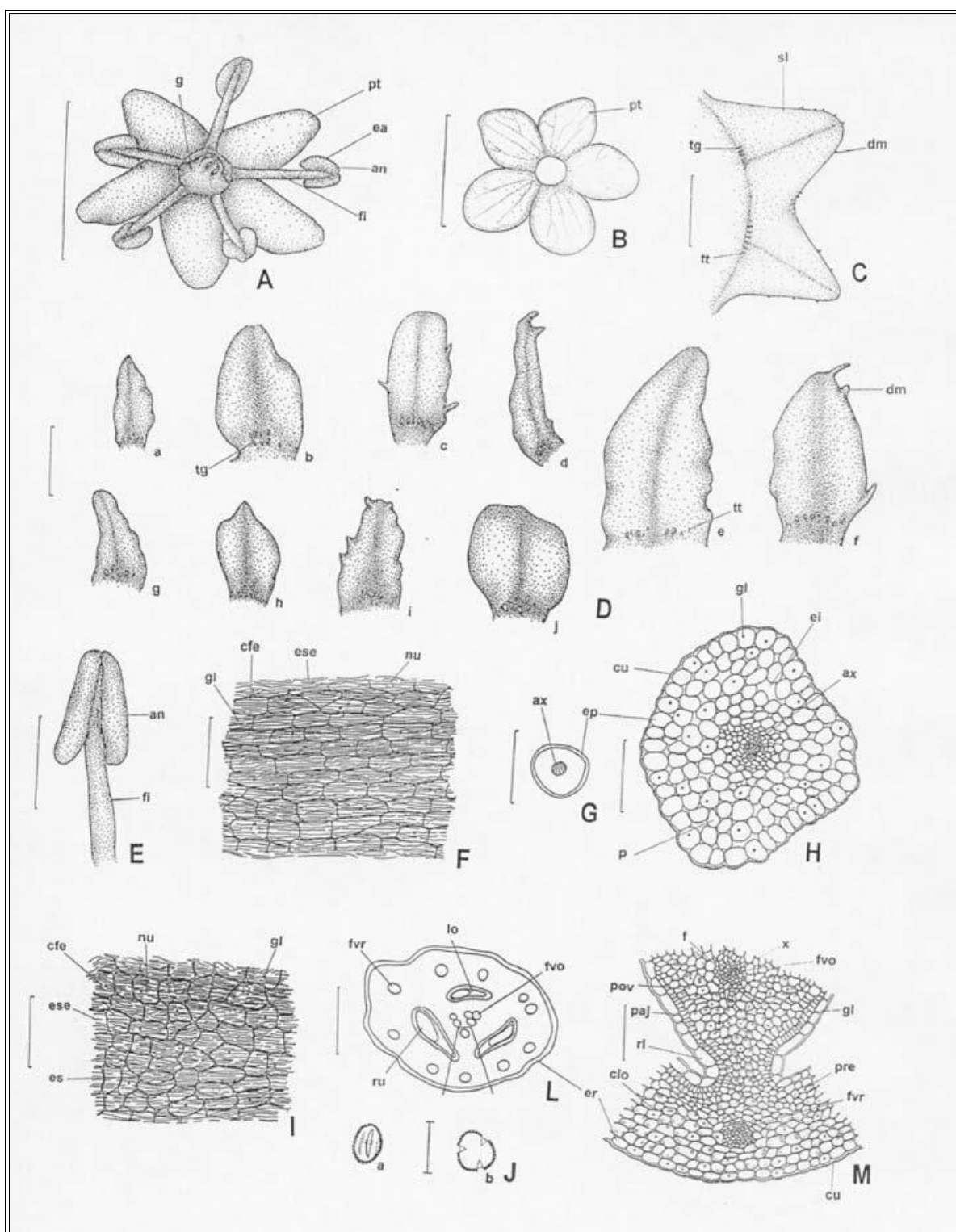
*Solução referência*: dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de álcool metílico.

*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 balões volumétricos de 5 mL, com álcool metílico, 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*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 cinco 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, em porcentagem, considerando a perda por dessecação.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

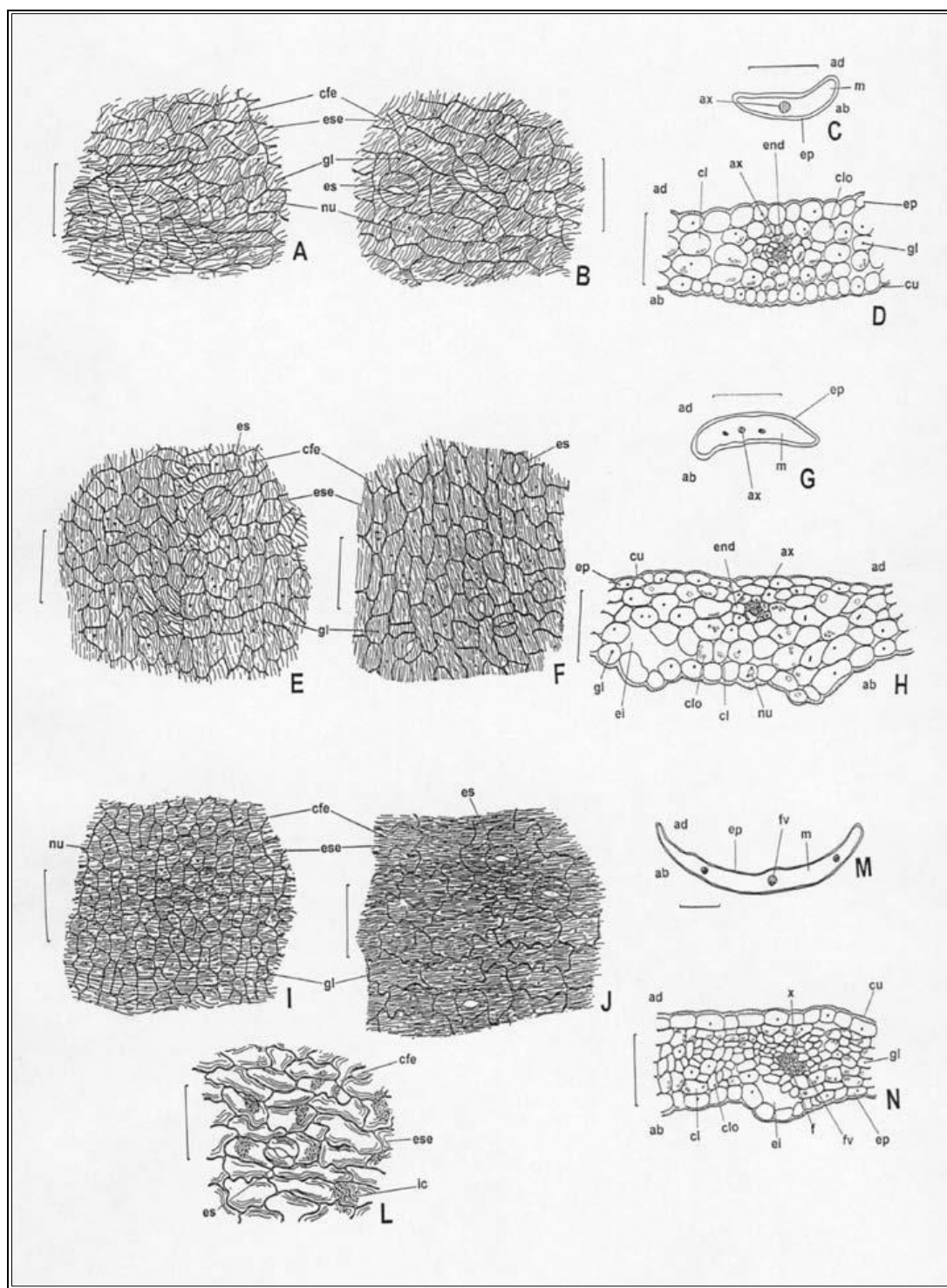
Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.



**Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.**

As régua 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 µm; em **J** a 30 µm; em **L** a 400 µm.

**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).



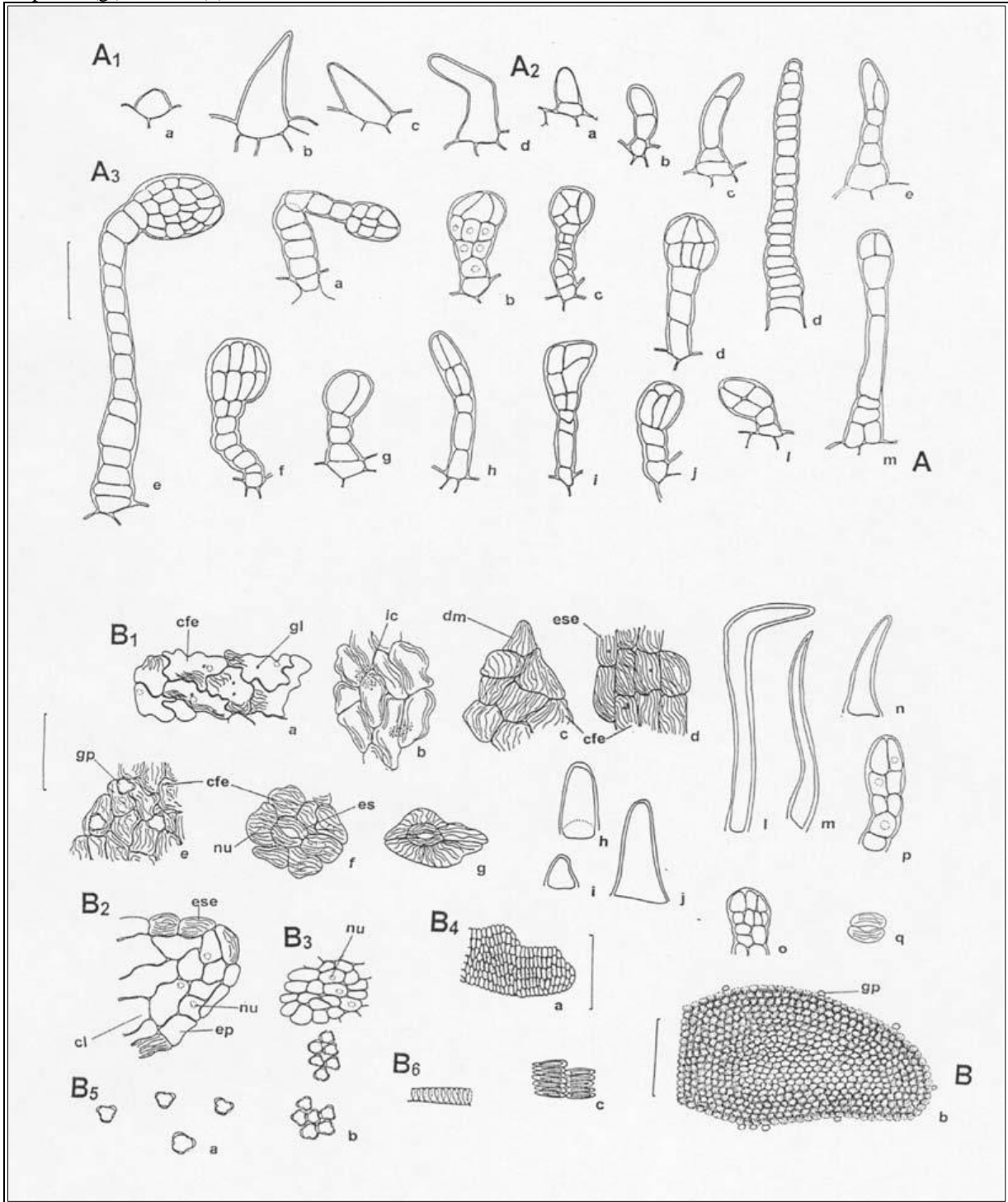
**Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.**

As réguas correspondem em **A, B, D, E, F, H, I-L** e **N** a 100 µm; 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); estômato (es); 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); clorênquima (cl); 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 e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.**

As réguas correspondem em **A** e **B** (**B1 - B3, B4c-B6**) a 100 µm; em **B** (**B4a e b**) a 400 µm.

**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.