

DETERMINAREA CANTITATIVĂ A HIPEROZIDEI DIN PRODUSELE VEGETALE RECOLTATE DE LA CRATAEGUS SP.

GRUIA SILVIA-MARIETA, LUNGEANU I., CONSTANTINESCU MARIA

În produsele vegetale studiate, *Crataegi flos*, *Crataegi folium*, *Crataegi folium cum flore* și *Crataegi fructus*, cele mai numeroase principii active, din grupa compușilor fenolici, sunt flavonele.

Din punct de vedere farmacognostic, flavonele sunt pigmenții galbeni din diverse organe ale plantelor, flavonele sunt pigmenții galbeni din diverse organe ale plantelor, răspândite sub formă glicozidată în frunze, flori și fructe și ca agliconi în scoarțe și lemn; sunt derivați ai 2-fenil-cromonei.

Flavonele mai importante, din produsele vegetale studiate sunt glicozide ale agliconului quercetin (quercetin-3-O-galactozida sau hiperozida și quercetin-3-O-rutinozida sau rutinul) și ale agliconului apigenin (apigenin 8-C-glucozida sau vitexina și vitexin-2''-O-ramnozida).

Dintre flavonele menționate mai sus, hiperozida se găsește în cantitate mai mare; această constatare, rezultat al cercetării noastre din anii trecuți, alături de importanța acțiunii terapeutice a substanței, ne-a determinat să continuăm studiile în direcția stabilirii unui procedeu pentru determinarea cantitativă a hiperozidei, care să poată fi aplicat la toate produsele vegetale recoltate de *Crataegus* sp., precum și în direcția stabilirii conținutului minim în acest principiu activ în produsele studiate.

Procedeu pentru determinarea cantitativă a hiperozidei prevede:

Într-un cartuș, confecționat din hârtie de filtru și vată, se introduce 10 g pulbere de plantă obținută de la unul din produsele vegetale studiate. După preparare, cartușul se introduce în dispozitivul de extracție al unui aparat Soxhlet și se extrage cu cloroform până când extractul cloroformic devine incolor (aproximativ 3 zile x 7 ore).

După debalastare, cartușul se usucă la temperatura camerei până a doua zi sau timp de 2 ore, la etuvă, la 60°C.

După uscarea, cartușul se reintroduce în aparatul Soxhlet și se extrage cu eter de petrol până când extractul de eter de petrol nu mai lasă pată de grăsime pe hârtie de filtru (aproximativ o zi x 7 ore).

Cartușul se usucă la temperatura camerei până a doua zi sau timp de 2 ore, la etuvă, la 40°C.

2 g pulbere de plantă, exact cântărită, debalastată, degresată și uscată, de la unul din produsele vegetale studiate, se adaugă într-un balon cu fund plat și șlif de 250 ml. Se adaugă 100 ml alcool 95°. Se cântărește. Se atașează la un refrigerent și se ține pe baie de apă timp de o oră. După răcire, balonul se cântărește din nou și se aduce la greutatea inițială cu alcool 95°. Conținutul balonului se filtrează printr-un tampon de vată.

50 ml soluție extractivă alcoolică se aduce într-un balon cu șlif de 100 ml și se concentrează, sub presiune redusă, la 1–2 ml. Soluția concentrată se aduce cantitativ, cu alcool 95°, într-un balon cotat de 10 ml; se aduce la volum cu același reactiv. Se lasă în repaus, la rece, până la formarea unui precipitat amorf (soluția probă de analizat (1)).

Suprafața unei plăci cromografice, 20 x 20 cm, cu stat adsorbant silicagel GF 254, 0.50 mm grosime, se împarte în 4 câmpuri egale, cu latura 5 x 20 cm, notate A, B, C și D.

În câmpul A, pe linia de start se aplică 10 μl soluție etalon hiperozidă 0,1% în alcool 95°.

În câmpurile B, C și D, pe linia de start, pe o distanță de 4 cm, se aplică, în bandă câte 80 μl soluție probă de analizat (1).

Placa cromatografică, astfel pregătită, se introduce în vasul cromatografic cu developant (50 v acetat de etil-7 v acid formic-3 v acid acetic glacial-30 v etilmetilcetonă-10v apă), și se lasă până când acesta a migrat pe o distanță de aproximativ 16 cm de la linia de start.

Excesul de solvenți pentru developare se îndepărtează cu ajutorul unui cuțent de aer, la temperatura camerei.

După uscare, placa cromatografică se examinează în lumina ultra violetă, la 365 nm. Hiperozida separată din soluția probă de analizat (1), se identifică cu ajutorul substanței de referință, și petele corespunzătoare acesteia, de pe cromotogramele din câmpurile B, C și D, se delimitează.

Suprafața de silicagel, delimitată pe cromotograma din câmpul B, se aduce cantitativ într-un Erlenmayer cu dop, de 50 ml. Se adaugă 3 ml metanol. Se agită 5 minute. Se lasă în repaus 5 – 10 minute. Soluția limpede se trece, prin filtrare, într-un balon cotat de 10 ml. Operația se repetă de 2 ori cu câte 3 ml metanol. După ultima eluție a pulberii de silicagel, filtrul se spală cu metanol și soluția din balonul cotat se aduce la volum, cu același reactiv (soluția probă de analizat (2)).

Suprafețele de silicagel, delimitate pe cromotogramele din câmpurile C și D se prelucrează în condițiile menționate anterior.

Se măsoară absorbanta celor 3 soluții probă de analizat (2) la 364 nm, în cuvă de 1 cm, folosind ca lichid de compensare metanol.

Din cele 3 cifre, obținute în urma măsurării absorbției soluțiilor probă de analizat (2) cel puțin 2 trebuie să fie egale.

Cantitatea (în g) de hiperozidă în 100 g produs vegetal (Crataegi flos, Crataegi folium, Crataegi folium cum flore, Crataegi fructus) se calculează după formula:

$$A_1^{1\%} \frac{A_p}{1} \text{ a hiperozidei la } 364 \text{ nm} \times 0,0008 \qquad \frac{A_p}{528,6 \times 0,0008}$$

Rezultate

În determinarea cantitativă a hiperozidei, din produsele vegetale recoltate de la Crataegus sp., am obținut următoarele rezultate la determinările efectuate prin aplicarea procedurii elaborat.

| Denumirea produsului vegetal | Conținut în hiperozidă |
|------------------------------|------------------------|
| Crataegi flos | min. 0,5% g/g |
| Crataegi folium | min. 0,3% g/g |
| Crataegi folium cum flore | min. 0,3% g/g |
| Crataegi fructus | min. 0,04% g/g |

Notă: Valoarea conținutului în hiperozidă a fost stabilită pe baza rezultatelor determinărilor efectuate pe produse recoltate din zone diferite ale țării.

CONCLUZIE

Dintre produsele vegetale recoltate de la Crataegus sp., produsul Crataegi flos conține cantitatea cea mai mare de hiperozidă.

COMENTARIU

1. Procedeu, elaborat de noi, pentru identificarea și determinarea cantitativă a hiperozidei din produsele vegetale recoltate de la Crataegus sp., se bazează pe tehnica cromatografiei pe strat subțire și tehnica spectroscopiei de absorbție în ultraviolet.

2. Conform prevederilor procedurii, calcularea conținutului în hiperozidă al produselor studiate, se realizează cu ajutorul absorbantei specifice a hiperozidei; această prevedere, face posibilă efectuarea determinării în absența substanței de referință corespunzătoare, care, în general, este deficitară.

BIBLIOGRAFIE

1. BALOESCU C., ELENA CUREA, Controlul Medicamentelor, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1983.
2. CIULEI I., Farmacognozie Lito I.M.F., București, 1983.
3. MORAIT C., Controlul Analitic Cantitativ al Medicamentelor, Ed. Medicală, București, 1977.
4. STAHL E., Thin-Layer Chromatography, Springer Berlin-Heidelberg-New York, 1969.
5. WAGNER E., BLADTS., ZGAINSKI E., Plant Drug Analysis, Springer Berlin-Heidelberg-New York, 1984.

DÉTERMINAISON QUANTITATIVE DE L'HYPEROSIDE DES PRODUITS VÉGÉTAUX RÉCOLTÉS DE CRATAEGUS SP.

Résumé

Dans cet ouvrage, nous avons présenté un procédé pour l'identification et pour la détermination quantitative de l'hyperoside des produits végétaux, récolté du *Crataegus sp.*

Par l'application de ce procédé, dont l'élaboration nous appartient, nous avons établi un contenu minimum en hyperoside aux produits végétaux étudiés. Le produit *Crataegi flos* contient la quantité la plus grande de Hyperoside.