

CONTRIBUȚII LA SEPARAREA ȘI IDENTIFICAREA ALCALOIZILOR DIN PLANTA SCOPOLIA CARNIOLICA JACQ

Aurel Gheorghiu, Adrian Constantinescu, Elena Ionescu-Matiu

Analiza cromatografică a fost aplicată de numeroși autori la studiul separării alcaloizilor din unele plante.

Bruyn (1) și *Persianova* (2) separă prin această metodă din planta *Scopolia carniolica* Jacq., hiosciamina și scopolamina. *Minina* (3) și *Jarzebinska* (4) studiază cantitativ alcaloizii din unele specii de *Scopolia*.

Fiind cunoscute avantajele electroforezei pe hirtie în ceea ce privește selectivitatea, sensibilitatea și exactitatea sa (5, 6, 7, 8) în lucrarea prezentă ne-am propus să aplicăm aceasta în studiul alcaloizilor din *Scopolia carniolica* Jacq., mai ales că în literatura de specialitate nu am găsit date privilegiate la separarea și identificarea acestor alcaloizi pe cale electroforetică.

Examenul electroforetic l-am făcut asupra unui „total de alcaloizi” obținut de noi din rizomul de *Scopolia carniolica* Jacq., folosind următoarea tehnică de lucru:

Produsul vegetal (rizom) pulverizat, în cantitate de 50 g., a fost umectat cu o soluție de carbonat acid de sodiu 1%. Pulberea a fost încălă la temperatura camerei, introdusă într-un aparat Soxhlet și extrasă cu eter etilic timp de 6 ore. Soluția eterică de alcaloizi a fost distilată pînă la scăitare, reziduu luat cu o soluție de acid acetic 5%, filtrat în vid și spălat de cîteva ori cu eter etilic în pilna de separație. Urmele de eter din soluția de alcaloizi au fost îndepărtate prin încălzire moderată pe baia de apă. Această soluție obținută de noi din rizomul de *Scopolia carniolica* Jacq., după ce a fost concentrată la un volum mic, am folosit-o direct în examenul electroforetic.

În cercetările noastre am întrebunțat un aparat de electroforeză construit de noi, adaptat pentru electroforeza verticală. Aparatul este alcătuit dintr-un redresor de tensiune reglabilă între 0—500 Volt, intensitatea 0—25 mA, un vas de sticlă conținînd cuve pentru soluția tampon, electrozi de cărbune și un dispozitiv pentru susținerea benzilor de hirtie.

După o serie de încercări făcute cu diferiți electrozi la pH-uri diferite, am constatat că electrolitul cel mai potrivit în acest caz este soluția de natriu boricum, pH 9,2.

Pe benzi de hirtie Watman Nr. 4, de dimensiuni 32/12 cm, am trasat culoare de cîte trei centimetri în sensul lățimii benzii, adică 4 culoare. La distanța de 16 cm perpendicular pe lățimea benzii, am trasat cu creionul linia 0 în fiecare culoare, lăsînd la margine cîte 0,5 cm, spre a evita efectul de margine.

Făcînd soluții de substanțe pure atât de hiosciamină cit și de scopolamină, precum și o soluție de hiosciamină și scopolamină, am etalat pe linia 0 cîte, 0,02 ml din aceste soluții, în primele trei culoare, iar în al patrulea soluția de alcaloizi totali din rizomul de *Scopolia*.

Utilizînd o tensiune de 10 v/cm și o intensitate de 1,2 mA/cm, am lăsat ca migrația electroforetică să decurgă timp de 3 ore, timp suficient pentru separarea acestor alcaloizi. Banda de hirtie a fost uscată apoi în etuva la temperatura de 40° și introdusă în reactivul Dragendorff modificat (R. Dragendorff 3 ml., acid clorhidric 1 ml, apă distilată 200 ml), pentru a pune în evidență alcaloizii separați electroforetic. Pentru eliminarea excesului de K. Dragendorff, banda de hirtie a fost spălată de mai multe ori cu eter etilic, pînă cînd fondul benzii de hirtie a devenit alb. În acest fel am obținut spoturi de alcaloizi de culoare roșie-cărămizie de intensități diferite.

În cazul electroforegramei corespunzătoare scopolaminei, am obținut un spot cărămiziu la distanța de 26 mm., față de linia 0; pentru hiosciamină distanța spotului a fost respectiv la 58 mm. Amestecul de scopolamină și hiosciamină a dat pe culoarul al treilea al foregramei două spoturi la aceleași distanțe cu celea corespunzătoare alcaloizilor puri.

„Totalul de alcaloizi” obținut de noi din rizomul de *Scopolia carniolica* Jacq., studiat pe culoarul al patrulea al electroforegramei, prezintă trei spoturi de alcaloizi, dintre care primii doi în ordinea migrării sînt scopolamina și hioscianina, identificați după distanțele de migrare ale alcaloizilor puri martori, iar al treilea spot situat la distanța de 76 mm., față de linia 0, corespunde unui alt alcaloid care nu a mai fost pus în evidență, nefiind menționat în literatura cromatografică și electroforetică (fig. nr. 1).

Controlul spoturilor separate electroforetic l-am făcut prin secționarea benzilor de hirtie în fișii corespunzătoare distanțelor de migrare, pe benzi netratate cu reactiv Dragendorff, eluționare și tratare cu reactivii generali ai alcaloizilor, obținind întotdeauna precipitate, ceea ce denotă că aceste substanțe separate pe cale electroforetică sînt alcaloizi.

Examenul electroforetic făcut asupra extractului preparat de noi din rizomul *Scopolia carniolica* Jacq., arată prezența unui singur spot cărămiziu situat la distanța de 58 mm., identică cu distanța de migrare a hiosciaminei pure. De aici deducem că în extract ceilalți alcaloizi sînt în cantități foarte mici încît nu permit să fie puși în evidență.

Distanțele de migrare au fost exprimate în raport cu linia mediană a fiecărui spot, față de linia 0.

Cercetările noastre vor continua în sensul identificării și al celui de al treilea alcaloid pe care noi am reușit să-l separăm electroforetic.

Urmărind a stabili pe lângă alcaloizi și alte substanțe caracteristice produsului analizat în așa fel încît să ne permită identificarea acestuia, am studiat benzile electroforetice în lumină ultravioletă filtrată. Astfel am constatat în cazul extractului de *Scopolia carniolica* Jacq., cinci spoturi net fluorescente și anume, patru în sensul migrării anodice, iar în sensul migrării catodice un singur spot fluorescent.

Dintre acestea cel mai caracteristic apare în lumina ultravioletă al treilea spot situat în sensul migrării anodice, de culoare albastru-deschis, pe care noi l-am înțilnit pe electroforegrame în mod constant la plantele medicinale din familia Solanacee, făcînd excepție *Hyoscyamus niger*. Acest spot fluorescent credem că se datorește metilesculinei, care se dedublează în glucoză și metilesculentină, prezentînd proprietăți fluorescente. Cel de la doilea spot în același sens de migrare, are o fluorescență intens albastră.

Spotul fluorescent observat în sensul migrării catodice are culoare violacee.

Examinînd în lumină ultravioletă electroforegrama dată de „alcaloizii totali” comparativ cu extractul (fig. nr. 2) am constatat în sensul migrării anodice la aceeași distanță prezența numai a celui de al doilea spot fluorescent albastru intens. În sensul migrării catodice, spotul fluorescent violaceu s-a menținut la aceeași distanță și cu aceeași fluorescență. Pe electroforegrama „alcaloizii totali”, în sensul migrării catodice mai apare încă un spot fluorescent albastru deschis mult mai departe de linia 0. Spoturile alcaloizilor și spoturile fluorescente constituie elemente caracteristice pentru identificarea acestei plante.

Concluzii:

Examenul electroforetic al „totalului de alcaloizi” obținut din *Scopolia carniolica* Jacq., ne-a permis separarea și identificarea a trei spoturi alcaloide, dintre care două corespund scopolaminei și hiosciaminei iar cel de al treilea spot separat de noi nu este citat în literatura cromatografică și electroforetică.

Examenul electroforetic al extractului de *Scopolia carniolica* Jacq., în lumina ultravioletă, indică prezența a patru spoturi fluorescente în sensul migrării anodice, dintre care unul caracteristic atribuit metilesculentinei, iar în sensul migrării catodice apare un singur spot fluorescent. În cazul „alcaloizilor totali” am pus în evidență un singur spot fluorescent în sensul migrării anodice și două în sensul migrării catodice.

A. GHEORGHIU ȘI COLAB.: CONTRIBUȚII LA SEPARAREA ȘI IDENTIFICAREA
ALCALOIZILOR DIN PLANTA SCOPOLIA CARNIOLICA JACQ



Fig. nr. 1. - Alcaloizii separați prin electroforeză din *Scopolia carniolica* Jacq: a) spotul hiosciaminei pure; b) spotul scopolaminei pure; c) electroforegrama „totalului de alcaloizi” din rizomul de *Scopolia carniolica* Jacq. (Primele două spoturi corespund hiosciaminei și scopolaminei, al treilea spot corespunde unui alcaloid necunoscut.)

A. GHEORGHIU ȘI COLAB.: CONTRIBUȚII LA SEPARAREA ȘI IDENTIFICAREA
ALCALOIZILOR DIN PLANTA SCOPOLIA CARNIOLICA JACQ



Fig. nr. 2. - Substanțele fluorescente în lumina ultravioletă, separate prin electroforeză din *Scopolia carniolica* Jacq: a) extractul indică la anod prezența a patru spoturi fluorescente, iar la catod a unui singur spot; b) totalul de alcaloizi indică la anod prezența unui singur spot, iar la catod prezența a două spoturi.

Elementele electroforetice descrise constituie un mijloc de identificare și control al rizomului de *Scopolia carniolica* Jacq și ai preparatelor sale farmaceutice.

Sosit la redacție: 12 martie 1960.

Bibliografie

1. BRUYN J. W.: *Chemisches Zentralblatt* 45, 1959, 14500; 2. PERSIANOVA I. B.: *Medișinscaia Promișlennosti U.R.S.S.* 8, 1958, 30; 3. MININA S. A.: *Medișinscaia Promișlennosti U.R.S.S.* 9, 1958, 11; 4. JARZEBINSKA W., SZIMANSCA M.: *Acta Poloniae Pharmaceutica* 5, 1958, 355; 5. VICENT D. *Ann. pharm. Franc.* 17, 4, 1959, 241; 6. LEDERER M.: *Introduction to paper electrophoresis, and related methods*, 1955 Elsevier, Amsterdam; 7. WAGNER G.: *Die Pharmazie* 8, 1955, 470; 8. JOKL V.: *Ceskoslovenske Pharmacia* 8, 1957, 432.

ДАНЫЕ К РАЗДЕЛЕНИЮ И ОПРЕДЕЛЕНИЮ АЛКАЛОИДОВ РАСТЕНИЯ *SCOPOLIA CARNIOLICA* Jacq

Георгиу А., Константинеску А., Енеску-Матну Е.

Авторы с помощью электрофореза на бумаге пытались выделить алкалоиды *Scopolia carniolica* Jacq. Из приготовленного ими „алкалоидного комплекса“ было получено три пятна, из которых два соответствуют гиосциамину или скополамину, а третье еще неизвестно в литературе.

На электрофореграмме в ультрафиолетовых лучах можно различить два флуоресцирующих пятна к катоду и одно пятно по направлению к аноду.

CONTRIBUTIONS A LA SÉPARATION ET L'IDENTIFICATION DES ALCALOÏDES DE LA PLANTE *SCOPOLIA CARNIOLICA* JACQ

A. Gheorgbiu, A. Constantinesco, E. Ionesco-Matiu

Les auteurs ont réalisé la séparation et d'identification des alcaloïdes de la plante *Scopolia Carniolica* Jacq. à l'aide de l'électrophorèse sur papier. Dans „le total des alcaloïdes“ ils ont mis en évidence trois taches nettement séparées. Deux d'entre elles correspondent aux alcaloïdes scopolamine et hyosciamine, tandis que la troisième n'est pas encore mentionnée dans la littérature.

Sous l'action de la lumière ultra-violette, l'électrophoregramme a présente deux taches fluorescentes dans le sens de la migration cathodique et une dans le sens de la migration anodique.