

## CERCETĂRI PENTRU IZOLAREA FILICINEI DIN RIZOMUL DE FILIX MAS

T. Goina, A. Radu, P. Petcu, A. Beu

Rizomul de Filix mas, întrebuințat în terapie în tratamentul teniei, se utilizează mai cu seamă sub formă de extract eterat.

Principiile active din rizomul și extractul de Filix mas sînt produși de condensare ai acidului butiric cu derivați metilați ai floroglucinei sub formă de florobutirofenone.

Conform datelor din literatură (11, 14, 16, 18, 19, 20), derivații florobutirofenonici conțin în molecula lor 1, 2, 3 sau 4 nucleii floroglucinici, iar activitatea lor fiziologică este în raport cu numărul nucleilor floroglucinici din moleculă. Cel mai simplu produs este aspidinolul cu nucleu floroglucinic și este considerat inactiv. Doi nucleii floroglucinici au albaspidina și flavaspidina, cu o slabă activitate fiziologică. Mai activ este acidul filicic cu 3 nucleii floroglucinici.

În planta vie acești derivați se găsesc în combinație cu acidul filicitanic. Pe lângă alte substanțe ca amidon, ulei eteric, filixnigrină, planta mai conține un ulei gras de culoare verde.

Rizomul și resturile de pețiol în planta vie sau în cele recent recoltate, au la interior o culoare verzuie. Suprafața de tăiere de culoare verzuie în contact cu aerul își schimbă culoarea în scurt timp devenind galben-roșcată pînă la brun, iar aceasta prin conservare mai îndelungată pătrunde și în restul țesuturilor și după o păstrare de un an, toate țesuturile interne ale rizomului și resturile de pețiol devin de culoare brună. Schimbarea culorii este atribuită oxidării taninului și formării unei flobafene, numită roșu de filix. Cercetări științifice au demonstrat că odată cu schimbarea culorii se produc și descompuneri ale principiilor active în derivați mai simpli fapt care atrage după sine și o diminuare a activității farmacodinamice. Pentru acest motiv literatura de specialitate prevede ca rizomul de Filix mas, să se întrebuințeze atîta timp cît el prezintă culoare verde și trebuie reînnoit în fiecare an.

Ținînd seamă de această instabilitate a produsului vegetal, pentru a avea în permanență un medicament activ, farmacopcele prevăd prepararea unui extract eterat, din rizomul recent recoltat.

S-a observat însă că și extractul eterat, prin conservare mai îndelungată, își pierde din activitatea sa farmacodinamică inițială. Unele principii din el se descompun, altele se separă sub formă cristalină mai puțin activă, ducînd astfel la diminuarea activității extractului.

L. Kroeber (13) menționează că extractul eterat de filix, prin conservare

timp de un an, pierde 1/3 din activitatea sa, în cazul cînd este păstrat în borcane. El poate fi conservat fără alterare, numai în fiole ermetic închise, sau prin păstrare în excicator peste oxid de calciu. Pentru acest motiv farmacopeea prevede ca extractul de filix, înainte de expediere, sau înainte de cîntărire, din vasul în care se păstrează, să fie bine amestecat și omogenizat și să nu se păstreze mai mult de un an (9).

Ținînd seamă de numeroasele contradicții care s-au constatat în ce privește acțiunea terapeutică a extractului de *Filix mas*, diverși cercetători au căutat să remedieze aceasta prin înlocuirea extractului eterat cu alte produse farmaceutice care să fie mai stabile și care să-și păstreze activitatea. Astfel, la noi *C. N. Ionescu* a preparat din rizomul de *Filix mas* un produs medicamentos înscris în F. R. VII. (pag. 244) sub numele de „*Filixonom*”, pe care farmacopeea îl descrie astfel: „Pulbere sau bucăți de culoare brună-roșcată, cu fractură sticloasă. Solubilitatea: insolubilă în apă, parțial solubilă în eter, benzen și uleiuri grase. Se dizolvă complet în soluții alcaline”.

Comentariile la Farmacopeea Elvețiană din 1947, propun înlocuirea extractului eterat de *Filix mas* cu: *Extractum Filicis concentratum*. Noi am reprodus acest extract de *Filix concentrat* după procedeul indicat de Comentariile Farmacopeei Elvețiene și am constatat că acesta este un produs de culoare brună-roșcată.

Avînd în vedere că pentru noua farmacopee s-a repartizat colectivului nostru monografia rizomului de *Filix mas*, am căutat să luăm în studiu extragerea și obținerea în stare pură a principiilor active din rizomul și extractul de *Filix mas*, pentru a avea un produs care să fie mai ușor de conservat, mai ușor de dozat, cu activitate farmacodinamică constantă și pentru a contribui prin aceasta la îmbunătățirea calității medicamentului.

#### Partea experimentală.

În cercetările noastre am utilizat ca material de experiență rizomii împreună cu resturile de pețiol și scvame, recoltați în luna octombrie 1959 din pădurea Făget din apropierea Clujului, situată la o altitudine de 500—600 m. Materialul recent recolat în greutate de 36 Kg., a fost despicat de noi în bucăți longitudinale, apoi uscat în incinta laboratorului, obținînd, după uscare, 16.200 g., adică un randament uscat de 45%.

Pentru prelucrare și extragere, materialul uscat a fost măcinat și adus la un grad de mărunțire ca o pulbere groscoară.

Pentru extragerea și izolarea filicinei am pornit de la proprietatea substanțelor active din rizomul și extractul de *Filix mas*, care, — după cum am amintit — sînt produși de condensare ai acidului butiric cu derivații metilați ai floroglucinei și care datorită funcțiunilor lor fenolice sînt solubili în hidroxizi cu formare de tenolați.

Aceștia prin tratare cu acizi sînt descompuși din nou și se pun în libertate derivații butirofloroglucinei insolubili în apă și în soluții acide. Pe acest principiu se bazează de altfel și metoda de determinare cantitativă a filicinei brute înscrisă în F. R. VII cit și în majoritatea farmacopeelor (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

#### Extragerea filicinei din rizomi.

Bazați pe cele de mai sus în cercetările noastre am căutat să extragem filicina direct din materialul uscat și pulverizat prin percolare cu diferite soluții alcaline ca: hidroxid de sodiu, carbonat de sodiu, amoniac, hidroxid de bariu, hidroxid de calciu, cit și cu oxid de magneziu. Din percolatele alcaline, după acidulare, am separat filicina prin filtrare, obținînd un randament de 1,50—2% filicină brută.

Filicinele astfel obținute sînt de culoare galben-roșcată, pină la galben-brună.

#### Izolarea filicinei din extract

Din materialul uscat și pulverizat, am preparat un extract eterat prin percolare, după procedeul F. R. VII, obținînd produsul finit cu un randament de 13%

raportat la materia primă luată în lucru. Extractul preparat de noi prezintă toate caracteristicile date de F. R. VII. pentru Extractum Filicis.

Determinind filicina brută din extractul preparat de noi, conform procedeu-ului din F. R. VII, am obținut un randament de 33,67%.

Ținând seama de constatările lui *L. Koller* și *E. Muller* (12) care au verificat conținutul în extract eterat și filicină brută în mai multe probe de rizomi de *Filix mas* recoltați la diferite altitudini, de la 100—1300 m., au observat că nu există o diferență remarcabilă în conținutul de filicină al rizomilor de la diferite altitudini, conținutul în extract variind între 5,60—10,82%, iar conținutul în filicină brută în extract între 13,93—29,20%: o probă de proveniență din Polonia, a conținut 30,50% filicină brută. Ei au mai constatat că dintre cele 22 de probe numai 5 au atins limita de 25% filicină brută, prevăzută de F. G. V., apreciind ca fiind prea exagerat conținutul în filicină brută pretins de Farmacopeea Germană. (F. R. VII. prevede 20—25% filicină brută). Rezultă deci că materialul studiat de noi este mult mai bogat în filicină.

Izolarea filicinei din extract am făcut-o cu hidroxid de calciu. Din soluția alcalină prin acidulare, au fost puși în libertate derivații floroglucinici pe care i-am separat prin filtrare și după uscare, am obținut un randament de 27,5% filicină raportată la extract și 3,57% filicină, raportată la materia primă luată în lucru.

Filicina obținută de noi se prezintă ca o pudră amorfă de culoare galben-pai, (mult mai deschisă la culoare decât filicinele obținute prin extragere directă din rizom). Este ușor și complet solubilă în alcool absolut, alcool izoamilic, alcool butilic, alcool benzilic, acetonă pură, benzen, sulfură de carbon, clorofom, eter etilic, xilen, tetraclorură de carbon, cit și în hidroxizi și în uleiuri grase. Insolubilă în: apă, eter de petrol, alcool metilic la rece (parțial solubilă la cald.).

#### *Experimentare biologică.*

Prin metodele de determinare cantitativă a filicinei brute, înscrise în majoritatea farmacopeelor (1. c), se determină totalitatea derivaților florobutiropfenonici, fără a putea aprecia care este raportul derivaților inactivi, sau mai puțin activi, față de cei foarte activi din punct de vedere farmacodinamic. S-a constatat că există rizomi și extracte de *Filix mas*, în care cantitatea de filicină brută corespunde prevederilor farmacopeei având cu toate acestea o activitate redusă. Pe de altă parte s-au găsit extracte în care cantitatea totală de filicină brută era inferioară celei prevăzute în farmacopee, fiind totuși foarte active. Aceasta se explică prin faptul că în primele predominau principiile puțin active, iar în celelalte predominau principiile foarte active, ceea ce constituie una din cauzele activității inconstante a rizomului și extractului de *Filix mas*, ducând la numeroase cazuri de intoxicație semnalate în literatură.

Pentru acest motiv cei mai mulți cercetători (1, 2, 12, 18, 20) au considerat ca determinarea chimică trebuie completată cu o determinare biologică.

Determinarea biologică — introdusă de *Straub* (2) — se face prin injectarea unei soluții de o anumită concentrație, preparată din extractul de *Filix mas*, într-un segment la rîmă (*Lumbricus terrestris*) și se urmărește reactivitatea segmentului. *Yagi* (2) propune introducerea rîmelor întregi în soluții de diferite concentrații de preparat, urmărindu-se timpul în care rîmele mor. *Wasicky* (2,21) propune întrebuintarea peștilor *Carassius vulgaris*, *Carassius auratus*, *Gobio fluviatilis* și *Scardinius erythrophthalmus*, pe care-i introduce în soluții de diferite concentrații de filicinat de magneziu și stabilește timpul de apariție a morții, luînd ca limită timpul de 1/2 oră. *Csipke Z.* (2) utilizează lipitorile (*Hirudo medicinalis*) ca test pentru stabilirea activității biologice.

Mureșan V. și Siminovic M. (15) pe baza datelor din literatură au elaborat o metodă pentru stabilirea dozei letale  $L_{50}$ .

În experiențele noastre, pentru a verifica activitatea biologică a extractului și filicinei pure, am utilizat procedeul lui Wasicky cu pești. În acest scop principiile active din extract și din filicină, le-am transformat în fenolați de magneziu, solubili în apă, prin triturarea produselor cu oxid de magneziu. Cu această ocazie am constatat — fapt relatat și de Kofler și Müller (12) — că prin păstrarea soluției de filicinat de magneziu timp de 24 ore, se produce o diminuare a activității farmacodinamice a soluției de filicinat de magneziu. Chiar soluțiile experimentate în aceeași zi, dimineața și după masă, au prezentat diferențe de acțiune.

Pentru acest motiv, soluțiile de filicinat de magneziu obținute prin triturarea extractului și a filicinei cu oxid de magneziu, triturate apoi cu apă și solubilizate într-o cantitate de 100 ml apă, le-am filtrat după o oră și le-am supus imediat experimentării, constatând că:

- extractul eterat are o acțiune în diluție de 0,025% și
- filicina are acțiune în diluție de 0,0125%.

Deci filicina obținută de noi are o activitate de două ori mai mare decât extractul.

#### Concluzii.

Cercetările noastre au dat următoarele rezultate:

1. Rizomii recoltați din jurul Clujului dau un randament de extract eterat mai mare decât cel prevăzut de F. R. VII. și cel relatat de alți cercetători.

Acest extract conține o cantitate de filicina brută mai mare decât cea prevăzută de F. R. VII. și alte farmacopei.

2. Filicina extrasă de noi prezintă o superioritate față de produsele farmaceutice cunoscute de acest gen, fiind un produs farmaceutic stabil, cu activitate fiziologică constantă și ușor de dozat.

3. Filicina extrasă de noi are o activitate biologică de două ori mai mare decât extractul eterat.

4. Credem că prin aceasta vom contribui la îmbunătățirea calității medicamentului și aducem un aport în problema mult discutată a instabilității preparatelor de Filix mas și a valorificării plantelor medicinale indigene.

5. Propunem introducerea acestui preparat în Farmacopeea Română, ediția VIII.

Sosit la redacție: 18 aprilie 1960.

#### Bibliografie

1. CSIPKE, Z.: A Magyar Gyógyszeresztudományi Társaság Ertesítője 5, 143—160, 425—438 (1929); 2. Idem: 6, 85—101 (1930); 3. Farmacopeea Cehoslovacă: II, 249, 629 (1954); 4. Farmacopeea Germană: V., 189, 433 (1910); 5. U. az: VI, 226, 574 (1926); 6. Farmacopeea Helvetica: V, 339, 785 (1933); 7. Farmacopeea Hungarica: V, III, 63, 214 (1954); 8. Farmacopeea Română: VI, 191, 449 (1948); 9. Farmacopeea Română: VII, 224, 520 (1956); 10. Farmacopeea Sovietică: VIII, 177, 421 (1952); 11. JAKABHAZY, ZS.: A Gyógyszerismeret Tankönyve: II, 144—150 (1913); 12. KOFLER, L., MULLER, E.: Arch. d. Pharm. u. Ber. d. d. Pharm. Gesellsch. 268, 644—652 (1930); 13. KROEBER, L.: Das Neuzeitliche Kräuterbuch. Gießpflanzen. Bd. III, 426 (1938); 14. MORITZ, O.: Einführung in die Allgemeine Pharmakognosie 97 (1936); 15. MUREȘAN, V., SIMIONOVICI, M.: Standardizarea biologică a medicamentelor, 350—354 (1955); 16. SCVORTOV, V. I.: Manual de Farmacologie, București 499—501 (1951); 17. STRAUB: (citat: Csipke); 18. THOMS, H.: Handbuch der Praktischen und Wissenschaftlichen Pharmazie V, 391 (1929); 19. TSCHIRSCH, A.: Handbuch der Pharmakognosie III/1, 5 (1923); 20. WASICKY, R.: Lehrbuch der Physiopharmakognosie, 342 (1932); 21. WASICKY, R.: Leitfaden für die Pharmakognostischen Untersuchungen im Unterricht u. in der Praxis I, 235 (1936).