

## CONTRIBUȚII LA STUDIUL CHIMIC ȘI BIOLOGIC AL ȘTEVIEI STINELOR (RUMEX ALPINUS L.)

L. Ádám

Deși în ultimele decenii purgativele sintetice sînt întrebunțate pe scară tot mai largă, totuși, produsele vegetale, care conțin antraglucozizi, au o mare însemnătate și în terapia modernă. Dat fiind că cel mai însemnat drog indigen, care conține antraglucozizi — Cortex Frangulae — se găsește din ce în ce mai greu (21), cu cîțiva ani în urmă ne-am propus să studiem ștevia stinelor (Rumex alpinus), o plantă care conține emodină, frecventă în munții noștri. Lucrările noastre preliminare (5) și datele apărute recent în literatura de specialitate (19, 23) ne-au determinat să efectuăm un studiu mai amănunțit referitor la această plantă.

Scopul lucrării de față este determinarea pe cale chimică (I) a conținutului în derivați antraceni în diferitele părți ale plantei și dozarea lor biologică (II).

I. *Determinarea cantitativă a derivaților antraceni în diferitele părți ale șteviei stinelor.*

Datele relate în literatură referitoare la conținutul în derivați antraceni al șteviei stinelor, le prezentăm sinoptic în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1.

Conținutul în derivați antraceni în diversele părți ale șteviei stinelor după diferiți autori.

| Conținutul în derivați antraceni % | Metoda de determinare | Autorul                            |
|------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Rădăcină                           | Rizom                 |                                    |
| 3,58—3,74                          | —                     | Gravimetrică Ciumburidze (6) 1956. |
| 2,2 —5,74                          | 1,46—4,15             | Fotometrică Lukic (19) 1959.       |
| —                                  | 4,58                  | Fotometrică Romanova (23) 1961.    |

Tabelul nr. 2.

Conținutul în derivați antraceni în diferitele părți ale șteviei stinelor.

| Data și locul colectării          | Partea analizată a plantei | Conținutul în derivați antraceni % |            |               |            | Total |
|-----------------------------------|----------------------------|------------------------------------|------------|---------------|------------|-------|
|                                   |                            | antra-chinone                      | antra-noli | antra-chinone | antra-noli |       |
| Munții Ciucului.<br>IV. 1961.     | rădăcină                   | 1,528                              | 1,286      | 0,212         | 0,064      | 3,090 |
|                                   | rizom                      | 1,283                              | 0,829      | 0,167         | 0,071      | 2,350 |
| Munții Ciucului.<br>IX. 1961.     | tulpină                    | 0,110                              | —          | —             | —          | 0,110 |
|                                   | fruct                      | 0,326                              | 0,178      | —             | —          | 0,504 |
| Grădina I.M.F. Tg.M.<br>IX. 1961. | limbul frunzei             | 0,283                              | 0,200      | 0,072         | —          | 0,555 |
|                                   | pețol                      | 0,037                              | 0,011      | —             | —          | 0,048 |
| Grădina I.M.F. Tg.M.<br>V. 1962.  | limbul frunzei             | 0,187                              | 0,067      | 0,048         | —          | 0,302 |
|                                   | pețol                      | 0,035                              | —          | —             | —          | 0,035 |
| "                                 | inflorescență              | 0,193                              | 0,078      | —             | —          | 0,271 |

Din tabel reiese că rădăcinile sînt cele mai bogate în principii active, și că rizomi conțin cam aceleași cantități. Pețioliurile și tulpinile, din punct de vedere practic, sînt lipsite de derivați antraceni.

În scopul de a stabili cum sînt repartizați derivații antraceni în diferitele părți ale rizomului, am ales 10 exemplare mediocre și am împărțit fiecare rizom în trei părți: porțiunea 1. (partea de 5—10 cm din vîrf), porțiunea 2. (partea de 20—30 cm din mijloc), și porțiunea 3 (restul rizomului reprezentînd 10—20 cm). Rădăcinile care aparțin porțiunilor respective ale rizomului, au fost studiate separat, fiind deci și ele grupate în trei categorii. Rezultatele sînt cuprinse în tabelul nr. 3.

Intrucît datele din literatură se referă exclusiv la părțile subterane, am determinat principiile active și în părțile aeriene. Metoda de determinare folosită a fost precedul fotometric preconizat de *Auterhoff* (4). Metoda *Auterhoff* este una dintre determinările cele mai întrebunțate alit de autorii străini, cît și de cercetătorii noștri (7, 9, 29, 12, 14, 19, 23), fiind considerată ca foarte corespunzătoare pentru determinările în serie. Curba de extincție a fost întocmită cu ajutorul izizinei (1,8-dioxiantrachinonă) livrată de laboratorul SERVA. Fotometrarea s-a efectuat în chiavete de 0,5 cm lățime la filtru S<sub>88</sub>. Produsul vegetal a fost uscat la temperatura camerei și păstrat cel puțin o săptămînă în excicator. Rezultatele sînt trecute în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 3.

Repartiția derivaților antraceni în diferitele părți ale rizomului și în rădăcinile care aparțin acestor părți

| Porțiunea analizată<br>a drogului | Conținutul în derivați antraceni %<br>combițați liberi |                |                   |                | Total |
|-----------------------------------|--|----------------|-------------------|----------------|-------|
|                                   | antra-<br>chinone                                      | antra-<br>noli | antra-<br>chinone | antra-<br>noli |       |
| Rizom porțiunea 1.                | 1,106  | 0,923          | 0,084             | 0,067          | 2,180 |
| Rizom porțiunea 2.                | 1,149  | 0,833          | 0,111             | 0,057          | 2,500 |
| Rizom porțiunea 3.                | 1,251  | 0,811          | 0,059             | 0,015          | 2,140 |
| Rădăcini din porț. 1.             | 1,286  | 0,889          | 0,141             | 0,081          | 2,400 |
| Rădăcini din porț. 2.             | 1,345  | 0,960          | 0,085             | 0,050          | 2,440 |
| Rădăcini din porț. 3.             | 1,348  | 0,930          | 0,122             | 0,040          | 2,440 |

Datele din tabelul nr. 3 arată că porțiunea 2. (partea de la mijloc) conține cantitatea cea mai mare de principii active, și că diferențele între părți nu sînt apreciabile. Rădăcinile care aparțin diferitelor porțiuni ale rizomului conțin cantități de derivați antraceni practic identice.

Pentru a stabili dacă la recoltare trebuie colectate și rădăcinile mici, am determinat conținutul în principii active separat în rădăcinile groase și în rădăcinile subțiri. Din tabelul nr. 4 rezultă că diferențele sînt mici: rădăcinile subțiri conțin în general aceleași cantități de principii active ca și rădăcinile groase.

Tabelul nr. 4.

Conținutul în derivați antraceni în rădăcinile groase și rădăcinile subțiri.

| Locul și data colectării<br>colectării | Conținutul în derivați antraceni %     |   |
|--|--|---|
|  | în rădăcinile groase<br>(0,5—1,5 cm Ø) | în rădăcinile subțiri<br>(0,1—0,3 cm Ø) |
| Munții Ciucului, XI. 1961.             | 2,320                                  | 2,370                                   |
| Grădina I.M.F. Tg. Mureș, III. 1962.   | 1,720                                  | 1,910                                   |
| Grădina I.M.F. Tg. Mureș, IV. 1962.    | 2,230                                  | 2,080                                   |

## II. Studiul biologic al diferitelor părți ale șteviei stinelor.

Un produs vegetal, chiar dacă conține derivați antraceni, nu e sigur că exercită o acțiune purgativă. De exemplu, Rheum raponticum deși conține aceeași cantitate de derivați antraceni ca și Rheum palmatum, efectul lui farmacologic este cu totul neînsemnat (4). Deci, determinările chimice pot reflecta valoarea unui drog, numai dacă efectul purgativ al drogului respectiv a fost confirmat prin analize biologice.

Cu toate că părțile subterane ale șteviei stinelor conțin în comparație cu alte droguri de acest gen cantități mari de derivați antraceni, se pune totuși întrebarea dacă acțiunea farmacologică a acestei plante este eficientă. Pentru a lămurii această problemă, paralel cu determinările chimice, am efectuat și determinări biologice.

Datele din literatură (8,24) arată că acțiunea purgativă a rizomului de Rumex alpinus L. este cu 50% mai slabă, față de efectul rizomului de revent. Aceste observații s-au făcut însă pe oameni în urma administrării extractelor de ștevie. Alte date referitoare la această problemă nu am găsit în literatură.

Acțiunea purgativă am studiat-o pe șoareci albi, întrebându-mă procedeu Fühner modificat (11). Am luat în lucru șoareci de ambele sexe, în greutate de 18—22 g și loturile le-am întocmit în așa fel ca, greutatea totală a unei grupe de 10 șoareci să fie între 195 și 205 g. Am administrat de fiecare dată unui șoarece 0,2 ml lichid, printr-o sondă subțire din material plastic, introdusă pînă în stomac. Aceleași animale au fost întrebuințate din nou numai după 1—2 săptămîni. În zilele premergătoare experiențelor, animalele au primit o alimentație obișnuită; deci nu au fost ținute la regim special. Substanțele analizate au fost administrate dimineața, iar după administrare animalelor li s-a dat hrana normală. În timpul experiențelor animalele au fost ținute în cuști cu 30 de compartimente, cu 4 picioare scurte, cu fundul din plasă rară de sîrmă. Am considerat drept rezultat pozitiv, dacă fecalele șoarecilor căzute pe hîrtia de filtru așezată sub cușcă, se întindeau și se lipeau de hîrtie. Fecalele de consistență normală nu lasă nici o urmă pe hîrtia de filtru.

Pentru a stabili acțiunea purgativă a produselor, am încercat să determinăm doza care provoacă diaree la 50% din animalele de experiență (ED<sub>50</sub>).

Cu toate că în ultimul timp în locul determinărilor de acest gen cu răspuns unic, sînt întrebuințate de mulți cercetători (2, 10, 16, 17, 18) metodele cu răspuns gradat, determinarea ED<sub>50</sub> este des folosită (1, 3, 4, 15, 26, 28, 30) fiindcă dă rezultate ilustrative și ușor comparabile.

Determinările le-am efectuat conform metodei care întrebuințează 2 doze standard și 2 doze probă, iar la căcul am folosit probitul. Ca substanță standard am utilizat istizină. Prin experiențe preliminare am determinat, alfit pentru standard, cit și pentru probă, cite 2 doze, din care una a provocat diaree la mai puțin de 50% din animalele de experiență, iar cealaltă doză la mai mult de 50%. Dozele au fost alese astfel ca raportul între ele să fie același (1:1,5) la standard și la probă. La determinările definitive, fiecare doză s-a administrat la 20 șoareci, deci pentru o determinare am întrebuințat 4×20 șoareci. Substanța standard a fost administrată sub formă de suspensie, iar din drogurile analizate am preparat o infuzie de 10%. Această infuzie a fost diluată sau concentrată pe baie de apă, astfel încît cantitatea de 0,2 ml lichid să conțină doza dorită. La determinarea părților aeriene, doza de 40,0 mg pe șoarece a avut o acțiune foarte slabă, nesigură, și de aceea nu am putut stabili ED<sub>50</sub>.

Calculul dozei ED<sub>50</sub> l-am efectuat pe baza următoarei formule (22):  $\log ED_{50} = \log$   
dozei inferioare +  $\frac{50-A}{B-A}$  log rației

A = procentul rezultatelor pozitive provocat de doza inferioară

B = procentul rezultatelor pozitive provocat de doza superioară

Calculul raportului de activitate, limitele erorilor și controlul paralelității le-am efectuat pe baza indicațiilor prevăzute în „Standardizarea biologică a medicamentelor” (20) și în farmacopeele engleză și maghiară (31,32).

Calculule sînt cuprinse în tabelul nr. 5.

Tabelul nr. 5.

Calculul și analiza rezultatelor determinărilor biologice.  
(Analiză probit simplificată.)

Simboluri:  $S_1, S_2$  doza inferioară și superioară a standardului  
 $K_1, K_2$  doza inferioară și superioară a preparatului  
 $P$  valoarea probitului (din tabel)  
 $q$  factorul de corecție corespunzător probitului  
 $n$  numărul șoarecilor dintr-un lot

|  | Doza<br>mg   | Nr. ani-<br>malelor<br>din lot | Rezultate<br>nr. ani-<br>malelor | Positive<br>% | Probit<br>(P) | q      |
|--|--------------|--------------------------------|----------------------------------|---------------|---------------|--------|
| <i>Experiența nr. 1.</i><br>(Dozarea biolo-<br>gică a rădăcinilor) | $S_1 = 5,0$  | 20                             | 5                                | 25            | 4,33          | 0,5398 |
|  | $S_2 = 7,5$  | 20                             | 12                               | 60            | 5,25          | 0,6215 |
|  | $K_1 = 13,3$ | 20                             | 4                                | 20            | 4,16          | 0,4902 |
|  | $K_2 = 20,0$ | 20                             | 14                               | 70            | 5,52          | 0,5764 |
| <i>Experiența nr. 2.</i><br>(Dozarea biolo-<br>gică a rizomilor)   | $S_1 = 5,0$  | 20                             | 5                                | 25            | 4,33          | 0,5398 |
|  | $S_2 = 7,5$  | 20                             | 12                               | 60            | 5,25          | 0,6215 |
|  | $K_1 = 20,0$ | 20                             | 4                                | 20            | 4,16          | 0,4902 |
|  | $K_2 = 30,0$ | 20                             | 12                               | 60            | 5,25          | 0,6215 |

|   |  | Exper. nr. 1  | Exper. nr. 2 |
|---|--|---------------|--------------|
| $d =$ diferența de doze:  | $1/2[(P_{K_2} - P_{K_1}) + (P_{S_2} - P_{S_1})]$ | 1,1400        | 1,0050       |
| $b =$ diferența de preparate:   | $1/2[(P_{K_2} - P_{S_2}) + (P_{K_1} - P_{S_1})]$ | 0,0500        | -0,0850      |
| $h =$ paralelitatea:  | $1/2[(P_{K_2} - P_{S_2}) - (P_{K_1} - P_{S_1})]$ | 0,2200        | 0,0850       |
| $L =$ rația dozelor (diferența log dozelor)   |  | 0,1761        | 0,1761       |
| $a =$ înclinația liniei: $d/L$  |  | 9,0910        | 5,7360       |
| $M =$ logaritmul raportului de activitate: $b/a$ ,<br>respectiv: $b/a - (\log K_2 - \log K_1)$                |  | 0,0077        | -0,0148      |
| $R =$ raportul de activitate în %: num. log $(2+M)$   |  | -0,4182       | -0,6169      |
| $V =$ variația fiecărei medii: $4/\sum qn$  |  | 38,18%        | 24,16%       |
| $B =$ variația lui $b$ : $V$  |  | 0,0898        | 0,0880       |
| $H =$ variația lui $h$ : $V$  |  | 0,0898        | 0,0880       |
| $A =$ variația lui $a$ : $V/L^2$  |  | 0,0898        | 0,0880       |
| $g =$ indicele de semnificație: $t/a/2A$  |  | 2,8950        | 2,8370       |
| $G =$ limitele de eroare procentuale:   |  | 0,1346        | 0,3197       |
|   |  | $C_1:$ 117,7% | 130,8%       |
| num. log $= 2 + \frac{g^M}{1-g} \pm \left(\frac{t}{a}\right) \left(\frac{1}{1-g}\right) \sqrt{B(1-g) + AM^2}$ |  | $C_2:$ 85,5%  | 73,9%        |
| $t_h$ proba paralelității: $h/\sqrt{H}$   |  | 0,7342        | 0,2865       |

Rezultatele determinărilor biologice sint cuprinse în tabelul nr. 6, unde am trecut și cantitățile de derivați antraceni totali găsiți la produsele respective.

Tabelul nr. 6.

Valoarea purgativă a diferitelor părți ale șteviei stînelor.

| Substanța<br>administrată | Conț.<br>în derivați<br>antr. % | Doza<br>mg<br>șoa-<br>rece | Nr. șoa-<br>recilor<br>din lot | Rezultate<br>pozit. % | ED <sub>50</sub> mg<br>șoarece | Limita<br>de<br>eroare<br>(%) | Raportul de<br>activitate<br>față de<br>istizină |
|---------------------------|---------------------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|--|
| Istizină                  | 100                             | 5,0                        | 20                             | 25                    | 6,68                           |                               | 100  |
| Rădăcină                  | 3,090                           | 7,5                        | 20                             | 60                    | 17,01                          | 14,5—20,0<br>(85,5—117,7)     | 38,18  |
|                           |                                 | 13,3                       | 20                             | 20                    |                                |                               |  |
|                           |                                 | 20,0                       | 20                             | 70                    |                                |                               |  |
| Rizom                     | 2,350                           | 20,0                       | 20                             | 20                    | 27,20                          | 20,1—35,5<br>(73,9—130,8)     | 24,16  |
|                           |                                 | 30,0                       | 20                             | 60                    |                                |                               |  |
|                           |                                 | 40,0                       | 20                             | 10                    |                                |                               |  |
| Frunză                    | 0,555                           | 40,0                       | 20                             | 10                    | ---                            | ---                           | ---  |
| Fruct.                    | 0,504                           | 40,0                       | 20                             | 20                    | ---                            | ---                           | ---  |

## Concluzii

1. Rădăcinile și rizomii șteviei stînelor conțin cea mai mare cantitate de derivați antracenicici. Rădăcinile sînt cele mai valoroase părți ale plantei.

2. Dintre părțile aeriene, limbul frunzelor are cel mai mare conținut în principii active, dar acest conținut reprezintă numai 1/5—1/6 din cantitatea ce se află în părțile subterane.

3. În diferitele părți ale rizomului, în rădăcinile subțiri și în cele groase, conținutul în derivați antracenicici este practic același.

4. Determinările biologice arată că rădăcinile sînt cele mai prețioase părți ale șteviei stînelor. Pentru o acțiune purgativă similară cu cea provocată de istizină, este necesar să se administreze o doză de aprox. 3 ori mai mare din rădăcinile de *Rumex alpinus* L. Doza uzuală de istizină pentru adulți este de 0,15—0,30, deci doza rădăcinii șteviei stînelor este de 0,5—1,0 g.

*Sosit la redacție: 18 iunie 1962.*

## Bibliografie

1. AKACIC B., POJES B.: *Die Pharmazie*, 16, 154 (1961); 2. AUROUSSEAU M., QUIRIN M.: *Annales pharm. franc.* 19, 241, 358, (1961); 3. AUTERHOFF H.: *Arzneimittel Forschung* 1, 412 (1951); 4. AUTERHOFF H.: *Arzneimittel Forschung* 3, 23, (1953); 5. ADAM L., SZANTHO E., KISGYÖRGY Z.: II. Sesiune șt. a I.M.F. Tg. Mureș, 1957, 133; 6. GIUMBURIDZE B. I.: *Aptecinos Dele*, 5, nr. 1, 40, (1956); 7. CUCU V., TARPO E.: *Farmacia* 7, 559 (1959); 8. CZETSCH-LINDENWALD H.: *Dtsch. Heilpflanzen* 9, (143); 9. FACLER S., MARCIAN S.: *Farmacia* 5, 410 (1957); 10. FAIRBAIRN J. W.: *Planta Medica* 4, 406 (1959); 11. FÜHNER H.: *Arch. f. exp. Pharmacol. u. Path.* 124, 185, (1927) cit. KOVACS (13), Simon (26); 12. HENNEBERG M.: *Biuletyn Instyt. Roslin Lecznicych*, III, nr. 3, 202 (1957); 13. KOVACS A.: A kísérletes orvostudomány vizsgáló módszerei, Akadémia K., Budapest 1957, III, 786; 14. KRAUS L.: *Ceskosl. Farmacia* 3, 171 (1954); 15. LISH M. P., DUNGAN W. K.: *Journ. Amer. Pharm. Ass., sc. ed.* 47, 371 (1958); 16. LOU T. C.: *Journ. Pharm. a. Pharmacol.* 1, 673 (1949); 17. LOU T. C., FAIRBAIN J. W.: *Journ. Pharm. a. Pharmacol.* 3, 225 (1951); 18. LOU T. C., FAIRBAIN J. W.: *Journ. Pharm. a. Pharmacol.* 3, 295 (1951); 19. LUKIC P. B.: *Planta Medica* 4, 400 (1959); 20. MUREȘAN V., SIMIONOVICI M.: *Standardizarea biologică a medicamentelor*, Ed. Medicală, București, 1955, 134, 391, 395; 21. NICULESCU GH., CONSTANTINESCU E., AVRAM L.: *Farmacia*, 7, 361 (1959); 22. REED L. J., MUENCH H.: *Amer. Journ. of Hyg.* 27, 943 (1939) cit. MUREȘAN 20; 23. ROMANOVA A. S., H. BANKOVSKI A. J.: *Med. Promislen.* 15, nr. 1, 16 (1961); 24. SCHLEMMER F., GENTNER O.: *Archiv der Pharmazie*, 278, 252 (1940); 25. SCHMID W.: *Arzneimittel Forsch.* 2, 6 (1952); 26. SIMON S., KOLOS E.: *Acta Physiol. Acad. Sc. Hung.*, V, 195 (1954); 27. SIMON S.: *A gyógyszerész*, 11, 128 (1956); 28. SCHMID W.: *Antraglykoside...* in K. PAECH, M. TRÄESY: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Springer Verlag, Berlin 1955, III, 561; 29. TARPO E., CUCU V.: *Farmacia* 8, 371 (1960); 30. TEITEL A., CONSTANTINESCU M.: *Farmacia* 4, 212 (1956); 31. *British Pharmacopoeia* 1953, 784, 32. *Pharmacopoea Hungarica* ed. V. Addendum 1958, 186.