

OBȚINEREA ȘI ANALIZA SANTONINEI DIN FLORILE DE ARTEMISIA SANTONICA L.

Maria Gáspár, C. Csedő

Pe lângă principiul activ volatil al plantei *Artemisia santonica* L. (Compositae), care se găsește din abundență în Dobrogea și Cîmpia Transilvaniei, se evidențiază și acela nevolatil — santonina — datorită căruia specia prezintă valoare terapeutică, avînd acțiune antiparazitară pronunțată.

Santonina fiind o lactonă internă a acidului santonic, în anumite condiții fizice sau chimice, molecula substanței se transformă, fenomen ce poate fi folosit la identificarea și determinarea ei.

Inflorescențele nedeschise sînt cele mai bogate în santonină și pentru obținerea acesteia se întrebuițează mai ales partea aceasta, utilizînd metoda lui *Massagetov* (4) modificată de *Stoianov* și *Tomova* (7, 8, 9).

Descrierea metodei: 10 g flori pulverizate (IV) se triturează cu 2 g hidroxid de calciu în prezența a 500 ml de apă fierbinte (80°C), încălzind amestecul timp de 10 minute. Filtratul cald se tratează cu 20 ml acid clorhidric 25 %, iar după răcirea lichidului santonina se extrage prin agitare cu 100, 60, 40 și 40 ml cloroform. Extractele cloroformice unite se neutralizează cu hidroxid de sodiu 4 % (50 ml). Faza cloroformică se concentrează pînă la reziduu uscat, care prin încălzire ușoară se dizolvă în 5 ml etanol și 10 ml apă. Cristalele obținute (0,3 g) se spală după 12—16 ore cu apă rece și se usucă la 100—105°C timp de 2 ore.

Santonina astfel obținută a fost supusă examinării de identitate atît prin metodele (reacții) clasice chimice cît și prin spectrometrie în U.V., I.R. și R.M.N., precum și prin spectrometrie de masă (S.M.) (2, 3, 5, 10).

Reacțiile de culoare pot avea loc cu extractul obținut din drog sau cu substanța cristalină obținută cu metoda descrisă anterior. Am efectuat 7 reacții de acest gen atît pe extract cît și cu santonina extrasă folosind pentru comparare santonină cristalină pură Merck, în fiecare caz avînd rezultate pozitive. Metoda cromatografică în strat subțire a fost aplicată pentru identificarea santoninei și a cineolului direct din drog (T.A.S.), (6). Metoda lui *Figurovskii* și *Rubinskaia* (1) privind identificarea microcristaloscopică a substanțelor a fost aplicată și pentru identificarea santoninei obținute de noi, dovedind aceasta prin cristale caracteristice ale santoninei.

Santonina a fost obținută din 5 probe provenite de la *Artemisia santonica* L., după cum urmează în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

| | | |
|-------------|--------------------------|-----------------------------|
| Proba nr. 1 | Inflorescențe nedeschise | din cultură de 5 ani (1967) |
| Proba nr. 2 | Herba — | din cultură de 6 ani (1968) |
| Proba nr. 3 | Herba — | din cultură de 1 an (1970) |
| Proba nr. 4 | Inflorescențe nedeschise | din cultură de 2 ani (1971) |
| Proba nr. 5 | Herba — | din cultură de 9 ani (1971) |

Înregistrarea *spectrelor U.V.* s-a realizat cu aparatul Spectrophotometru Zeiss DML 21, la extincția 0—1, viteza de înregistrare 500 mm/3 minute, substanța de cercetat fiind dizolvată în metanol (1 mg/100 ml). S-au înregistrat și spectrele soluțiilor acidulate și alcalinizate, comparându-le cu spectrul etalonului. Adsorbțiile specifice (λ max., λ min. și $\log \epsilon$) sînt cuprinse în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2
Absorbțiile specifice în U.V.

| Nr. probelor | λ max. (nm) | λ min. (nm) | $\log \epsilon$ |
|----------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|
| Substanța nr. 1 | 240,0 | 210,1 | 4,82 |
| Substanța nr. 2 | 240,0 | 206,9 | 4,22 |
| Substanța nr. 3 | 240,0 | 204,7 | 4,02 |
| Substanța nr. 4 | 239,9 | 209,9 | 4,26 |
| Substanța nr. 5 | 240,0 | 211,2 | 4,00 |
| Santonină pură Merck (etalon) | 240,0 | 210,0 | 4,38 |

Rezultă că santonina a fost cea mai pură la probele nr. 2 și 4 unde $\log \epsilon$ santoninei etalon ($\log \epsilon$ 4,38). Variația mai mare privind adsorbția specifică ($\log \epsilon$ 4,22 și 4,26) este cea mai apropiată de adsorb-probelor 1, 3 și 5 se datorește impurităților acestora.

La cele 5 probe de substanțe cercetate, dispersate în bromură de potasiu (1 mg/150 mg), vibrațiile caracteristice s-au înregistrat cu aparatul I.R. Perkin Model 457, la 250—4000 cm^{-1} număr de undă, iar valorile obținute sînt trecute în tabelul nr. 3.

Tabelul nr. 3
Variația grupărilor caracteristice (cm^{-1})

| Nr. probei | —CH ₃ | —CO— | Beta santonină | —C=C | —CH ₂ — | —CH ₃ | —C—O— |
|------------------|------------------|------|----------------|------|--------------------|------------------|-------|
| 1 | 2940 | 1776 | 1675 | 1624 | 1462 | 1383 | 1241 |
| 2 | 2945 | 1790 | 1685 | 1662 | 1631 | 1462 | 1310 |
| 3 | 2942 | 1785 | 1685 | 1682 | 1631 | 1462 | 1310 |
| 4 | 2940 | 1776 | 1660 | 1624 | 1462 | 1380 | 1306 |
| 5 | 2942 | 1787 | 1675 | 1670 | 1640 | 1462 | 1272 |
| Substanță etalon | 2852 | 1793 | — | 1666 | 1635 | 1372 | 1185 |

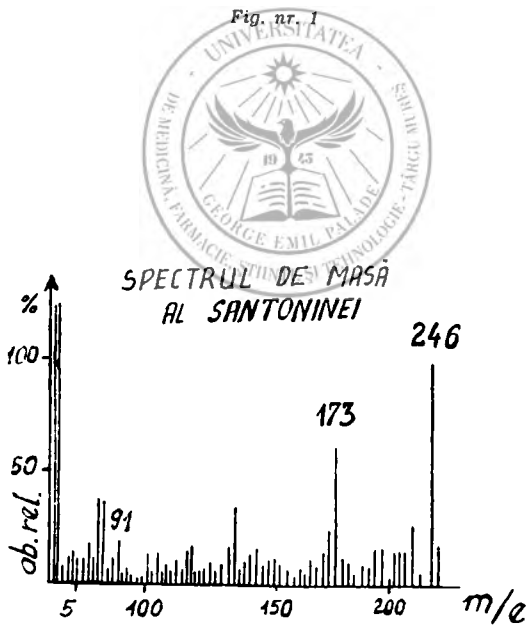
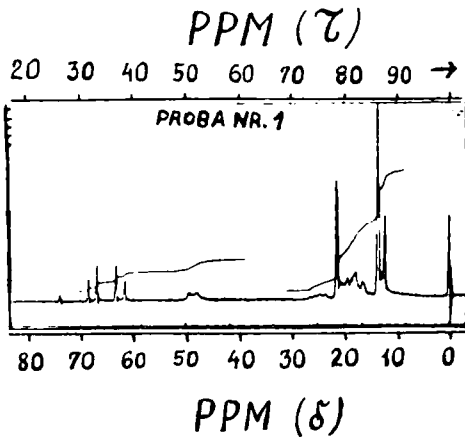


Fig. nr. 2

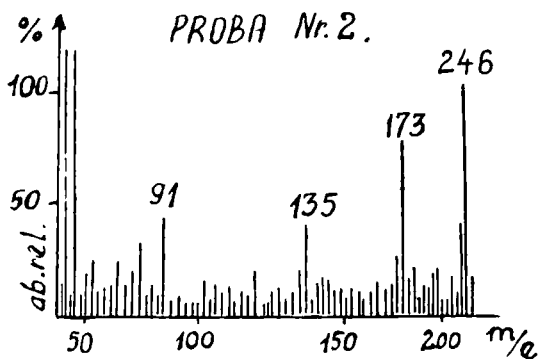


Fig. nr. 3

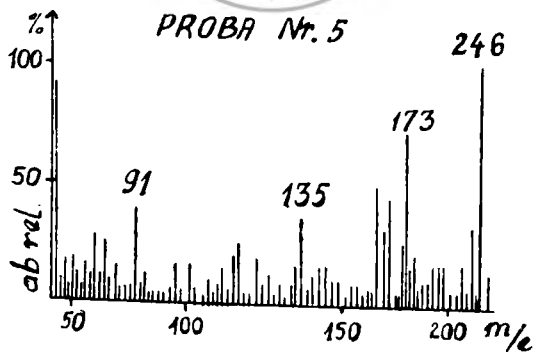


Fig. nr. 4

Din tabel reiese că substanțele obținute din cele 5 probe, conțin ca impuritate beta-santonină ($1660-1685\text{ cm}^{-1}$), de altfel vibrațiile lor specifice sînt identice cu rezonanțele obținute la santonina etalon.

Înregistrarea spectrelor de rezonanță magnetică nucleară (RMN) s-a efectuat cu aparatul Spectrometru Varian NMR—60 Mhz, folosindu-se ca solvent deuteriumcloroform, la concentrație de 0,025 mg de santonină, temperatura înregistrării 29°C , frecvența aplicată 500 Hz, timp de înregistrare 250—100 secunde. În tabelul nr. 4 sînt cuprinse valorile deplasărilor chimice (δ) ale protonilor (vezi fig. nr. 1 = proba nr. 1), constantele de cuplaj (J) m calculate pe baza spectrelor RMN.

Tabelul nr. 4
Deplasările chimice ale protonilor

| Valorile δ | d (legături duble) | Nr. protonilor | J (Constanta de cuplaj) | Locul protonului la C |
|-------------------|--------------------|----------------|------------------------------------|-----------------------|
| 6,75 | d | 1 | $J_{1,2} = 10,0$ | H — 1 |
| 6,23 | d | 1 | | H — 2 |
| 4,86 | d | 1 | $J_{6,7} = 9,5$ | H — 6 |
| 2,39 | multiplacitate | 1 | $J_{11\text{CH}_3} = 7,0$ | H — 11 |
| 2,13 | d | 3 | $J_{\text{CH}_3\text{XH}_3} = 1,3$ | CH ₃ — 4 |
| 1,55 | multiplacitate | 5 | | H 7,8—8' 9—9' |
| 1,36 | singulet | 3 | | CH ₃ — 10 |
| 1,28 | d | 3 | | CH ₃ — 11 |

Din spectrele RMN reies deplasările chimice ale protonilor caracteristici (6,75 d, $J_{1,2} = 10$ ciclobenzen, 4,86 d, $J_{6,7} =$ lactonă pentaciclică; 2,13 d, $J_{\text{CH}_3} = 1,3$). S-au înregistrat mici diferențe aproape la toate cele 5 probe.

Spectrele de masă au fost înregistrate cu aparatul „Spectrum Varian SM“ folosind 0,1—1 mg substanță de cercetat (din cele 5 probe), abundența relativă a ionilor fiind exprimată în funcție de raportul masă/sarcină (m/e) al particulelor. Picul de bază (picul molecular) s-a considerat la m/e de 246, deci greutatea moleculară s-a dat la 246 (G. M. santoninei).

Pe baza valorilor picurilor din spectrele de masă am înțocmit graficele corespunzătoare, exprimînd valoarea m/e în $\text{cm}^{\circ}/\%$ în funcția abundențelor relative (fig. nr. 2, 3, 4).

Spectrele de masă ale substanțelor de cercetat, izolate din cele 5 mostre, arată identitatea lor cu santonina, avînd greutatea moleculară 246. La probele 4 și 5 s-au observat picuri la m/e 135, 150, 152, respectiv la m/e: 161, 163, care se datoresc impurităților eventuale.

Concluzii

Santonina izolată din florile de Artemisia santonica L. cu metoda lui Massagetov, modificată de Stoianov și Tomova, din punct de vedere fizic și chimic este identic cu produsul similar de calitate farmaceutică. Ren-

tabilitatea metodei (2,65—3,00 %) este bună și se poate realiza și pe calea microproducției.

Bibliografie

1. *Figurovskii N. A., V. G. Rubinskaia*: Apt. delo (1960), 9, 1, 43. 2. *Gáspár Maria*: Studiu farmacognostic și fitochimic al speciei *Artemisia maritima*, Teză de doctorat, I.M.F. Cluj, 1974. 3. *Gáspár Maria, Csedő C.*: Identificarea spectroscopică a santoninei extrase din *Artemisia maritima*. Simpozion de plante medicinale și aromatice, U.S.S.M. Secția de farmacie Tg.-Mureș, 29.01.1976; 4. *Massagetov P. S.*: Archiv der Pharm. (1932), 270, 392; 5. *Punhey J. I., Sternhell S.*: Austr. J. Chem. (1965), 18, 543; 6. *Stahl E.*: Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1970; 7. *Stoianov N.*: Farmacia Sofia (1957), 6, 33; 8. *Tomova M.*: Izv. na Bot. Inst. pri B.A.N. 1951, II. 9. *Tomova M.*: Bulgarsk. Akad. na Nauk. izv. na bot. inst. Kn. 1955, IV. 10. *Wasade N., Tsuchiya T., Yoshita E., Watanabe E.*: Tetrahedron (1967), 23, 4623—4634.

Sosit la redacție: 25 martie 1978

Maria Gáspár, C. Csedő

ONTAINING AND ANALYSING SANTONIN FROM ARTEMISIA SANTONICA L. FLOWERS

Artemisia santonica L. occurs in rich quantities in Dobrudja and in the Transylvanian Plain (Romania). It may serve as a source to obtain santonin. The flowers of *Artemisia santonica* L. yielded pharmaceutically first class santonin checked by U.V., I.R., R.M.N. and M.S. spectrometrical methods. The profitableness of the method is good (2.65—3.00 % as for dry flowers). This method is applicable in laboratories of microproduction.