

IZOLAREA UNOR BIFLAVONOIZI DIN JUNIPERI FRUCTUS

Mărioara Monea, C. Csedő

Cercetarea fracțiunii flavonoidice din Juniperi fructus, constituie continuarea preocupărilor colectivului disciplinei de farmacognozie, de la Facultatea de Farmacie din Tirgu-Mureș, privind conținutul de ulei volatil al fructelor de ienupăr, mature și nemature, și analiza gaz-cromatografică a probelor de ulei volatil obținute de la diferite specii de Juniperus care se găsesc în flora spontană a României (2, 3, 4, 5, 10, 12).

Studiul fracțiunii flavonoidice a produsului Juniperi fructus, a fost întreprins la sugestia prof. dr. Răcz G., care a atras atenția asupra faptului că, după distilarea uleiului volatil, apa care rămâne în balonul de distilare prezintă o culoare intens galbenă. Se naște ideea valorificării superioare a acestui produs, care rămîne ca deșeu după distilarea uleiului volatil și care ar putea fi utilizat pentru extragerea biflavonoizilor, avînd în vedere faptul că, la facultatea noastră există cercetări și în ceea ce privește proprietățile farmacodinamice ale acestui produs (11).

Din literatura de specialitate aflăm că biflavonoizii sînt componenți caracteristici pentru reprezentanții fam. Cupressaceae și pot fi considerați indicatori chemotaxonomici pentru diferitele specii ale familiei. Acești compuși flavonici se caracterizează fizic și chimic prin proprietăți foarte apropiate, constituind o fracțiune destul de omogenă. Pînă acum, în Juniperus sp. s-a descris prezența *hinokiflavonei* sau *kayaflavonei* (6—9), iar autorii japonezi au separat din *J. rigida* Sieb. et Zucc. *amentoflavona* și *podocarpusflavona* (6, 9).

Autorii polonezi (6) efectuînd un studiu comparativ pe 10 specii de Juniperus, au descris, în părțile aeriene, 3 componenți flavonici și anume: *amentoflavona*, *bilobetina* și *cupressuflavona* (alături de mono și dimetil eterii amentoflavonei).

Partea experimentală

Material și metodă. Produsul a fost obținut din flora spontană a țării noastre, uscat la temperatura camerei și sortat în: — fructe nemature de culoare galben-verzuie, mici; — fructe mature de culoare violet, cenușie, brună, de dimensiuni mai mari.

Pentru izolarea biflavonoizilor am ales sortul fructe imature de culoare galben-verzuie. Drogul a fost pulverizat corespunzător și înainte de extracție s-a făcut determinarea cantitativă a totalului flavonoidic, prin complexare cu $AlCl_3$ (FR IX). Valoarea găsită a fost de $1,12 g^0_0$ flavonoide totale, exprimate în rutozid.

Extracția biflavonoidelor s-a făcut din 2,050 kg fructe galbene nemature, prin percolare, timp de două săptămîni, cu 10 l metanol. Extrac-

tul metanolic a fost concentrat pînă la consistență sirupoasă și spălat în pilnie de separare cu 2 l eter de petrol. Extractul purificat s-a introdus pe coloană de poliamidă (Woelm DC). Extractul cu eter de petrol a fost concentrat și păstrat.

Eluarea fracțiunilor de pe coloană s-a făcut cu amestec de metanol : apă, începînd cu diluția 1 : 1 și treptat mărind cantitatea de alcool metilic pînă se ajunge la metanol pur. Frațiunile culese au fost în volum de 500—750 ml. Prima fracțiune (150 ml) foarte concentrată a fost luată în lucru. Următoarele în volum de 500 ml și ultimele în volum de 750 ml (total 31 fracțiuni), au fost concentrate la volum mic. S-a obținut în fiecare fracțiune un reziduu destul de abundent, de culoare galbenă. Modul de eluare este redat în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Fracțiunile obținute prin eluarea coloanei de poliamidă

Eluant	Numărul fracțiunii	Cantitatea
metanol : apă 1 : 1	1 2—20	150 ml 500 ml
metanol : apă 3 : 1	—	—
metanol : apă 6 : 1	—	—
metanol : apă 7 : 1	21—27	750 ml
metanol : apă 8 : 1	28	750 ml
metanol : apă 9 : 1	29	750 ml
metanol	30,31	750 ml

Toate fracțiunile au fost cromatografiate pe strat subțire de Kieselgel G (Merck), utilizînd mai multe sisteme de migrare, după cum urmează:
benzen, piridină, acid formic (36 : 9 : 5)
toluen, piridină, acid acetic (10 : 1 : 1)
benzen, piridină, formiat de etil, dioxan (5 : 1 : 2 : 2)

Literatura de specialitate recomandă pentru separarea biflavonozilor stratul subțire de poliamidă. Noi am utilizat silicagel și de asemeni hîrtie Whatman 1 și 4. Pentru cromatografia pe hîrtie cel mai bun sistem de migrare a fost butanolul, ac. acetic, apă (4 : 1 : 5).

Am luat în lucru în primul rînd fracțiunea nr. 1 (150 ml) care după reducere la volum mic, a fost apoi introdusă pe o altă coloană cromato-

grafică, din Kieselgel G, neavind suficientă poliamidă. După eluarea coloanei (vezi tabelul nr. 2) cu benzen clorofom, acetonă, acetat de etil și metanol, s-au obținut următoarele rezultate: fracțiunile acetonice (2—6) sînt amestecuri de substanțe cu fluorescență galbenă în UV, unele cu fluorescență brună și altele cu fluorescență albastră (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2

Solventul	Fracțiunile obținute în ordinea eluării coloanei
BENZEN	fracțiunile 1—10, a 200 ml, au fost reunite, culoare verde.
CLOROFORM	fracțiunile 10—20 a 200 ml, au fost reunite, cu aspect incolor.
ACETONĂ	fracțiunile 20—30, a 200 ml, reunite, de culoare galben aurie, după evaporare sub vid, rămîne un precipitat galben.
ACETAT DE ETIL	fracțiunile 30—40 a 200 ml, de culoare galbenă, după evaporare sub vid, cristale galbene.
METANOL : APĂ (1 : 7)	fracțiunile 40—50, a 200 ml, de culoare galben pal, după evaporare cristale galbene.
METANOL	fracțiunile 50—60, a 200 ml, reunite, de culoare galbenă, după evaporare cristale galbene.

În amestecul substanțelor separate, se găsesc câteva la care s-a putut stabili punctul de topire și anume: 172° C, 112° C, 252° C și 227° C. După analogie cu datele din literatura de specialitate se presupune că ultimele două substanțe izolate corespund *bilobetinei* și *cupressuflavonei*.

Concluzii

1. S-a pus la punct metoda de izolare a biflavonoizilor din *Juniperi fructus*.
2. Prin cromatografie pe coloană, pe strat subțire și pe hirtie, a fost posibilă separarea unor biflavonoide, dintre care, după punctele de topire și comportarea în UV, se identifică *bilobetina* și *cupressuflavona*.

Bibliografie

1. *Chezal K., Handa B., Rahman W.*: J. Chromatog. (1970), 48, 484;
2. *Csedő K., Rácz G.*: Farmacia (1971), 2, 81; 3. *Csedő K., Fülöp L., Rácz G.*: Herba Hung. (1970), 9, 7; 4. *Csedő C., Rácz G., Péter M.*: Rev. med. (1968), XIV, 2, 196; 5. *Hörster H., Csedő C., Rácz G.*: Rev. med. (1974), XX, 1, 79; 6. *Lamer-Zarawska E.*: Pol. J. Pharmacol. Pharm. (1975), 27, 81; 7. *Limbean D.*: Studiul biflavonoidelor din fructe de *Juniperus communis*. Lucrare de diplomă, I.M.F. Tîrgu-Mureș, 1980; 8. *Maria D.*: Studiul biflavonoidelor din fructele speciei *Juniperus communis* L. Lucrare de diplomă, I.M.F. Tîrgu-Mureș, 1980; 9. *Natarajan S., Murti V., Seshardi T.*: Phytochemistry (1970), 9, 575; 10. *Rácz G., Csedő C., Péter M.*: Rev. med. (1968), XIV, 2, 189; 11. *Rácz-Kotilla E., Csedő C., Rácz G.*: Farmacia (1971), 3, 165; 12. *Rácz G., Csedő C., Hörster H.*: Studii și cercetări de biologie vegetală (1976), 2, 28.

Sosit la redacție: 11 iulie 1985.

Mărioara Monea, C. Csedő

ISOLATION OF CERTAIN FLAVONOIDS FROM JUNIPERI FRUCTUS

A method of isolating biflavonoids from juniper fruit has been elaborated.

By partition, thin-layer and paper chromatography, it was possible to separate certain biflavonoids, of which, after the melting points and behaviour at UV, bilobetine and cupressuflavone were identified.

The extraction of biflavonoids from Juniperi fructus was made with methanol, by the method of percolation. The methanol extract evaporated at small volume was extracted with chloroform, the two fractions obtained being: soluble in chloroform and insoluble in chloroform.

The paper presents the processing of methanol fraction soluble in chloroform by extracting on silicagel column.
