

# PROBLEME DE FARMACIE

Catedra de botanică-farmacognozie (cond.: prof. dr. A. Radu, doctor-docent)  
a I.M.F. Cluj

## CERCETĂRI CHEMOTAXONOMICE LA ERICALELE DIN ROMÂNIA NOTA I. GLICOZIDE FENOLICE

(Partea experimentală)

M. Tămaș

Material și metodă

Dintre Ericalele din R.S.R., au fost verificate pentru prezența glicozidelor fenolice un număr de 18 specii de diferite proveniențe (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1

Speciile de Ericale studiate, locul și data recoltării

Nr. crt.	Specia	Locul recoltării	Data (anul, luna)
1.	Pirola uniflora	V. Drăganului, Tușnad	1969 (VI), 1970 (VII)
2.	P. secunda	Izv. Mureș, Tușnad, Dl. Răchitiș (Suceava)	1969 (VII) 1970 (VII, IX)
3.	P. rotundifolia	Mt. Vlădeasa, Dl. Răchitiș	1969 (VI), 1970 (IX)
4.	P. media	Mt. Vlădeasa	1969—70 (VI, IX)
5.	Chimaphila umbellata	Tușnad	1970 (VII)
6.	Monotropa hypopitys	Ciucea (Jud. Cluj)	1970 (VIII)
7.	Loiseleuria procumbens	M.-ții Rodnei, Retezat	1969 (VIII)
8.	Rhododendron kotschyi	M.-ții Rodnei, Retezat	1969 (VIII)
9.a)	Arctostaphylos uva-ursi	Mt. Scărișoara- Belioara	1968 (IX), 1970 (VIII)
9.b)	Arctostaphylos uva-ursi	(M.-ții Apuseni) Dl. Răchitiș (Jud. Suceava)	1970 (IX)
10.	Vaccinium myrtillus	M.-ții Apuseni	1969—70 (VI—IX)
11.	Andromeda polifolia	Turbăria Mohoș (Ciuc)	1970 (VII)
12.	Vaccinium vitis idaea	M.-ții Apuseni	1969—70 (VI—IX)
13.	Vaccinium gaultherioides	M.-ții Rodnei, Retezat	1969 (VIII)
14.	Oxycoccus quadripetalus	Ml. Belcești (Beliș) Turbăria Mohoș (Ciuc)	1969 (IX) 1970 (VII)
15.	Calluna vulgaris	M.-ții Apuseni	1969—70 (VII—IX)
16.	Bruckenthalia spiculifolia	Băișoara (Jud. Cluj)	1969—70 (VII—IX)
17.	Erica carnea	Grăd. Bot. Cluj	1970 (IV, IX)
18.	Empetrum nigrum	Turbăria Mohoș (Ciuc)	1970 (VII)

Materialul vegetal recoltat a fost supus uscării și apoi măcinat într-o moară de cafea pînă se obține o pulbere fină, care s-a păstrat în pungi de polietilenă pînă în momentul utilizării.

Punerea în evidență a arbutinei și altor glicozide fenolice s-a făcut după metoda folosită de *Hörhammer* și *Wagner* (19), care constă în următoarele: la 5 g pulbere de frunze se adaugă 50 ml metanol 50 %, 0,5 g carbonat de calciu și se extrage timp de 15 minute pe o baie de apă în fierbere, agitînd flaconul și folosind o pilnie mică drept refrigerent. Extractul fierbinte se filtrează și apoi se mai spală materialul vegetal cu metanol 50 % fierbinte, pînă ce soluția extractivă se aduce la un volum de 50 ml. Se adaugă apoi extractului 0,5—1 g acetat de plumb, se agită și se filtrează. Filtratul are o culoare gălbuie și se poate supune analizei cromatografice.

Pentru punerea în evidență a agliconilor rezultați în urma procesului de hidroliză, se iau 2 ml extract și se hidrolizează într-o baie de apă în fierbere, timp de 30 de minute cu 2 ml HCl 10 %. Soluția răcită se agită apoi cu o parte egală de eter etilic într-o eprubetă. Stratul eteric se decantează și se usucă apoi pe sulfat de sodiu sicc. și servește pentru analiza cromatografică.

În cazul plantei *Monotropa hypopitys*, la o cantitate de pulbere s-a adăugat apă și s-a lăsat la macerat timp de 24 de ore la temperatura de 30°, pentru hidroliza enzimatică. Din acest macerat apos, după 24 de ore s-a făcut o extracție cu eter etilic. Stratul eteric s-a decantat și s-a concentrat fiind supus analizei cromatografice. Pe acesta l-am considerat un extract enzimatic. În paralel pulberea uscată a fost extrasă cu eter etilic, pentru a detecta acidul salicilic sau salicilatul de metil liber.

**Cromatografia în strat subțire.** Ca substrat am folosit silicagel G (Merck) întins pe plăci de 15×10 cm, în strat de 0,25 mm (după *Stahl*, 35).

Sistem de solvenți: I — acetat de etil:metanol:apă — 100:16,5:13,5,

II — toluol:acetat de etil:acid formic 50:40:10.

Timp de migrare: 30—40 minute.

Identificarea s-a făcut cu acid fosfomolibdenic (20 g acid fosfomolibdenic se dizolvă în 80 ml acetonă și 20 ml apă. După ce cromatograma a fost pulverizată uniform cu acest reactiv, se introduce într-o atmosferă saturată de amoniac (un excitator în care se găsește un cristalizator cu amoniac). Pentru producția de hidroliză nu este necesară introducerea în vapori de amoniac. Glicozidele fenolice și agliconilor se colorează în albastru-gri. Pentru extractele din *Fol. Uvae ursi* am mai folosit ca reactiv de identificare R. Millon cu care glicozidele dau o culoare galbenă pe fond alb.

Salicilatul de metil și acidul salicilic din *Monotropa hypopitys* au fost identificați cu clorură ferică 2 % cu care dau o colorație violetă.

Pentru o bună separare a produșilor de hidroliză am folosit sistemul II de solvenți, deoarece cu sistemul I hidrochinona și derivații săi au o valoare R<sub>f</sub> prea ridicată, în apropierea liniei de front.

Punerea în evidență a chimaphilinei din *Chimaphila umbellata*, *Pirola secunda* și *Monotropa hypopitys* s-a făcut tot prin metoda cromatografică pe strat subțire de silicagel, folosind soluțiile extractive metanolice, iar ca reactiv de identificare dinitrofenil hidrazina cu care chinonele dau o colorație roșie.

Substanțe etalon: p-arbutina (Fluka A. G. Buchs S. G.) sol. 0,1 % metanolică  
hidrochinonă 1 % în metanol  
monometilhidrochinonă 1 %; dimetilhidrochinonă 1 %  
salicilat de metil 1 % în cloroform  
acid salicilic 1 % în cloroform.

\* Mulțumim și pe această cale colegului chimist N. Popovici, de la Institutul de chimie din Cluj, pentru substanțele etalon de monometilhidrochinonă și dimetilhidrochinonă puse la dispoziție.

## Rezultate și discuții

Analizând cromatogramele efectuate pentru punerea în evidență a glicozidelor fenolice (fig. nr. 1) și a agliconilor lor (fig. nr. 2) se poate constata prezența acestor glicozide în toți reprezentanții studiați ai fam. Pirolaceae, în unele Ericaceae și lipsa lor în reprezentanții fam. Empetraceae. În cadrul fam. Ericaceae glicozidele apar numai în primele 3 subfamilii și lipsesc la Ericoideae.

La Pirolaceae, care sînt foarte bogate în glicozide, predomină cele cu un Rf superior arbutinei, dintre care pentru toate sînt caracteristice glicozidele cu Rf 0,46 și 0,63.

Arbutina a putut fi identificată numai în frunzele de *Arctostaphylos uva ursi* și *Vaccinium vitis idaea*. La frunzele de *V. vitis idaea* alături de arbutină mai apare o pată cu Rf superior, care corelată cu datele lui *Entlicher, Walewska, Friedrich* și *Winkler* (11, 39, 12, 42) și comparată cu frunzele de păr sălbatic (*Pirus pyraeaster*) cu care am lucrat în paralel (fig. nr. 1), se poate considera că această pată superioară arbutinei este piroxidul.

Urmărind variația compoziției chimice în funcție de proveniența drogului, am putut constata că, la Fol. *Uvae ursi* recoltat din Munții Apuseni, la producții de hidroliză, pe lângă hidrochinonă mai apare un spot cu valoare Rf superioară care este metilhidrochinona și care nu apare la frunzele recoltate din Jud. Suceava (fig. nr. 3). Din aceasta se poate deduce că frunzele recoltate din Munții Apuseni conțin pe lângă arbutină și metilarbutină. Astfel, se confirmă ipoteza emisă de prof. *Borza* (5), referitoare la originea diferită a celor două populații de *Arctostaphylos uvae ursi* din România, care diferă din punct de vedere morfologic, iar acum se confirmă și o diferență biochimică.

Urmărind cromatogramele produsilor de hidroliză a glicozidelor se constată că pentru majoritatea Ericalelor acesta este hidrochinona care se găsește și în stare liberă în plante, însă în cantități foarte mici (fig. nr. 1 și nr. 2).

Cea mai bogată specie ca număr de glicozide fenolice se dovedește a fi *Pirola secunda* cu 5 glicozide, rezultate ce concordă cu cele obținute de *Inouye* și colab. (23), care au semnalat tot 5 glicozide la planta recoltată din Japonia, și în care au determinat un glicozid ca fiind renifolinul.

În urma hidrolizei acide la *Monotropa hypopitys* apare acid salicilic și numai urme de salicilat de metil, din cauza desfacerii legăturii esterice în timpul hidrolizei acide sau enzimatic. În planta proaspătă nu se găsește însă acid salicilic, iar salicilatul de metil numai în urme (fig. nr. 4).

Chinonele s-au putut releva numai la reprezentanții subfam. Pirololoideae și la Mototropoideae (fig. 5), ceea ce confirmă datele lui *Inouye* (21—24).

Prezența glicozidelor fenolice la unele *Rhododendreae*, *Arbutoideae* și *Vaccinioideae*, la toate Ericoideae și la *Empetraceae* nu a putut fi pusă în evidență, deși s-a mărit pînă la 10 ori cantitatea de soluție aplicată la început. Cunoșcînd și sensibilitatea reactivului fosfomolibdenic (19) putem considera plantele care au dat reacție negativă la acest reactiv ca fiind lipsite de glicozide fenolice.

Prezența unui aglicon diferit de al altor Ericale, în cazul plantei *Monotropa hypopitys* (salicilatul de metil), poate fi pusă în legătură cu modul saprofit de nutriție al acestei plante, singura de acest fel între Ericalele noastre.

### Considerații taxonomice și relații chemotaxonomice.

Majoritatea sistematicienilor fac mai mult considerații asupra poziției sistematice și originii filogenetice a ord. Ericales și mai puțin asupra familiilor și subfamiliilor din interiorul ordinului.

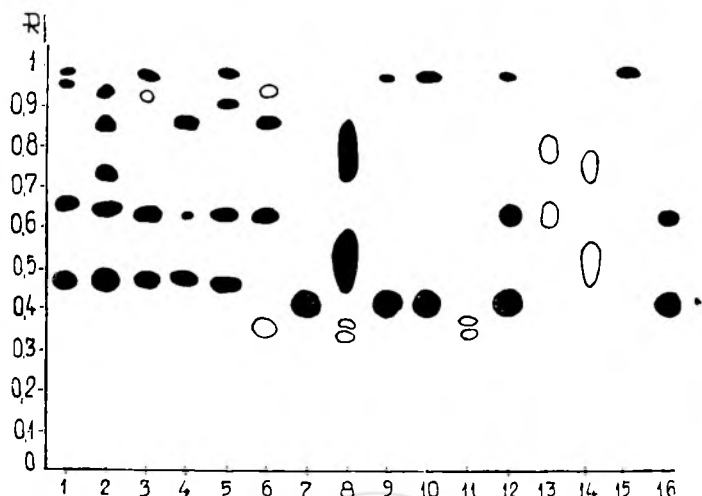


Fig. nr. 1: Cromatografia în strat subțire a glicozidelor fenolice. Sistem de solvenți: acetat de etil:metanol:apă—100:16,5:13,5. Identificare cu acid fosfomolibdenic și vapori de amoniac. 1. *Pirola uniflora*; 2. *P. secunda*; 3. *P. rotundifolia*; 4. *P. media*; 5. *Chimaphila umbellata*; 6. *Monotropa hypopitys*; 7. *arbutina*; 8. *Rhododendron kotschyi*; 9. *Arctostaphylos uva-ursi* (M.-ții Apusenii); 10. *Arctostaphylos uva-ursi* (jud. Suceava); 11. *Andromeda polifolia*; 12. *Vaccinium vitis idaea*; 13. *Bruckenthalia spiculifolia*; 14. *Loiseleuria procumbens*; 15. hidrochinona; 16. *Pirus pyrastrer*.

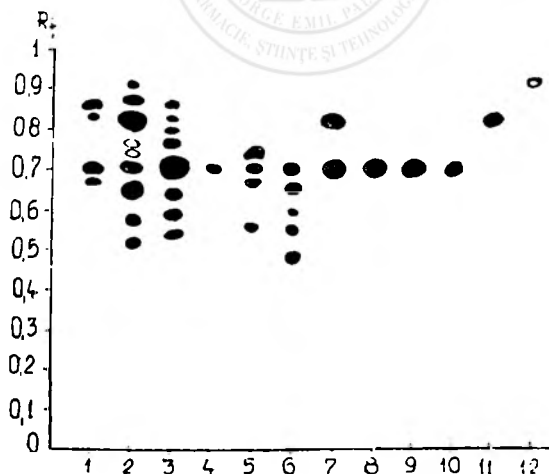


Fig. nr. 2: Cromatografia în strat subțire a produșilor de hidroliză. Sistem de solvenți: toluol: acetat de etil: acid formic—50:40:10. Identificare cu acid fosfomolibdenic. 1. *Pirola uniflora*; 2. *P. secunda*; 3. *P. rotundifolia*; 4. *Chimaphila umbellata*; 5. *Monotropa hypopitys*; 6. *Rhododendron kotschyi*; 7. *Arctostaphylos uva-ursi* (M.-ții Apusenii); 8. hidrochinona; 9. *Arctostaphylos uva-ursi* (jud. Suceava); 10. *Vaccinium vitis idaea*; 11. monometilhidrochinona; 12. dimetilhidrochinona.

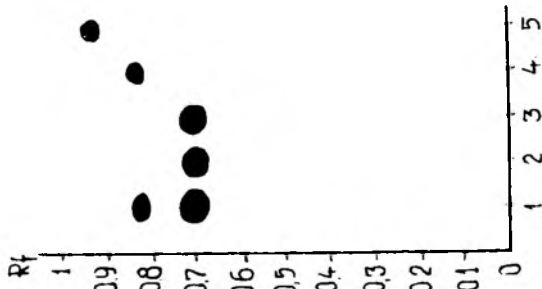


Fig. nr. 3: Cromatografia în strat subțire a produșilor de hidroliză. Sistem de solvenți: ca la fig nr. 2. Identificare cu reactiv Milon. 1. *Arctostaphylos uva-ursi* (M.-ții Apusenii); 2. *hydrochinona*; 3. *Arctostaphylos uva-ursi* (jud. Suceava); 4. monometilhidrochinona; 5. dimetilhidrochinona.



Fig. nr. 4: Cromatografia în strat subțire la *Monotropa hypopitys*. Sistem de solvenți: ca la fig. 1. Identificare:  $FeCl_3$  (sol. 2% în apă). 1. extract metanolic hidrolizat cu HCl 10%; 2. acid salicilic; 3. salicilat de metil; 4. extract eteric; 5. hidrolizat enzimatic.

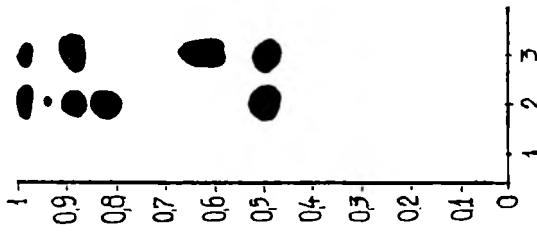


Fig. nr. 5: Cromatografia în strat subțire a extractelor metanolice de: 1. *Monotropa hypopitys*; 2. *Chimaphila umbellata*; 3. *Pirola secunda*. Sistem de solvenți: ca la fig. 1. Identificare cu dinitrofenilhidrazină.

Incadrarea lor în subclasa Gamopetale, în sistemele mai vechi (41), are la bază numai criteriul morfologic luat din sfera florii.

Sistemele de clasificare mai recente grupează ordinele de Angiosperme în ramuri, bazându-se pe caracterele lor generale și nu pe unul singur. Ericalele sînt incluse în ramura Parietaligene (4, 8, 15) pe baza placentăției lor și sînt considerate ca derivate din Guttiferales (6, 34).

Din trimeria unor genuri (*Empetrum*), *Chadefaud* și *Emberger* (8) indică o legătură mai îndepărtată a Ericalelor cu Polycarpicele. Tot ei menționează că în ceea ce privește raportul cu familii din alte ordine și din alte linii se presupune o legătură cu ord. Rosales, dar că aceste legături sînt mai puțin pronunțate.

*Engler* (10) consideră ord. Theales (= Guttiferales) mai polivalent decît alți autori, din el derivînd nu mai puțin de 7 linii filetice printre care și Ericalele (cunoscute și sub numele vechi de Bicornae).

*Tahtadjian* (36) arată o legătură strînsă a Ericalelor cu Thealele, mai ales la nivelul familiilor primitive ale celor două ordine.

În ceea ce privește reprezentanții din interiorul ordinului Ericales, se constată familii mai primitive și altele mai evaluate. Între primele patru familii din interiorul ordinului (Clethraceae, Pirolaceae, Ericaceae și Epacridaceae) sînt asemănări și legături filogenetice evidente, pe cînd Empetraceaele se îndepărtează mai mult de tipul caracteristic al ordinului. Menționăm că Empetraceaele au fost plasate și privity foarte diferit de către sistematicieni, cînd în vecinătatea Euphorbiaceaelor, Buxaceaelor, cînd în cadrul Coelastralelor, astăzi ele fiind considerate indiscutabil Ericale, caracterul particular care le-a îndepărtat de Ericale fiind trimeria involușului floral și al androceului. *Hagerup* (citat de *Tahtadjian*) ajunge chiar la concluzia apropierei Empetraceaelor de subfam. Rhododendreaelor, pe baza florii și a diferitelor ei caractere, a morfologiei sporodermei, aducînd și argumentul apropierei biochimice între Empetraceae și Ericaceae.

Ericalele sînt considerate plante foarte vechi, cu caractere stabile puțin plastice, iar în cadrul ordinului se pot observa mai multe linii evolutive, unele care se îndepărtează, divergente, tocmai din cauza vechimii lor.

Din studiul răspîndirii glicozidelor fenolice la reprezentanții indigeni ai ord. Ericales (tabelul nr. 2) se poate constata că aceste substanțe sînt bine reprezentate în cadrul ordinului, dar în cadrul familiilor repartiția este inegală și diferită. Cele mai multe, ca număr de glicozide, se găsesc în fam. Pirolaceae. În cadrul fam. Ericaceae, glicozidele fenolice se găsesc răspîndite numai la primele trei subfamilii, ceea ce ar indica o legătură între acestea și fam. Pirolaceae.

Lipsa glicozidelor la Ericoideae, le îndepărtează de celelalte 3 subfamilii și de Pirolaceae și permite o apropiere a lor de Empetraceae.

Legătura mai îndepărtată cu ord. Rosales, indicată de unii autori (8), s-ar putea argumenta prin prezența la unele Arbutoideae și Vaccinioideae a arbutinei și pirosidului care sînt prezente și la genul *Pirus*.

### Concluzii

— S-a studiat prezența glicozidelor fenolice la 18 specii de Ericale din România, dintre care 9 au fost verificate pentru prima dată din acest punct de vedere (*Pirola uniflora* L., *P. rotundifolia* L., *P. media* L., *Rhododendron kotschyi* Simk., *Loiseleuria procumbens* (L.) Desv., *Andromeda polifolia* L., *Vaccinium gaultherioides* Bigel., *Oxyccocus quadripetalus* Gilib., *Erica carnea* L.).

— Arbutina a putut fi identificată numai în frunzele de *Arctostaphylos uva ursi* (L.), Spreng. și *Vaccinium vitis idaea* L.

— S-a semnalat prezența metilarbutinei în frunzele de *Arctostaphylos uva ursi* provenite din Munții Apuseni și lipsa acestora din frunzele recoltate din Jud. Suceava.

Tabelul nr. 2  
Valoarea Rf a glucozidelor fenolice și a unor fenoli liberi

Nr. crt.	Specia	0,40 arbutina	0,46	0,52 methyl- arbutina?	0,55	0,60 prosid	0,63	0,72	0,78	0,85	0,90	0,92	0,70 (S, II) hidro- chinona	0,82 (S, II) metilhidro- chinona
1.	<i>Pirola uniflora</i>		X				X	X		X		X	X	X
2.	<i>P. secunda</i>		X				X					X	X	X
3.	<i>P. rotundifolia</i>		X				X			X		X	X	X
4.	<i>P. media</i>		X				X			X		X	X	X
5.	<i>Chimaphila umbellata</i>		X				X			X		X	X	X
6.	<i>Monotropa hypopitys</i>		X				X			X		X	X	X
7.	<i>Loiseleuria procumbens</i>		X				X			X		X	X	X
8.	<i>Rhododendron kotschyi</i>		X				X		X			X	X	X
9.a)	<i>Arctostaphylos uva ursi</i> (Cj.)		X	X	X		X					X	X	X
b)	<i>Arctostaphylos uva ursi</i> (Sv)		X	X	X		X					X	X	X
10.	<i>Andromeda polifolia</i>		X				X					X	X	X
11.	<i>Vaccinium myrtillus</i>		X				X					X	X	X
12.	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>		X				X					X	X	X
13.	<i>Vaccinium gaultherioides</i>		X				X					X	X	X
14.	<i>Oxycoccus quadripetalus</i>		X				X					X	X	X
15.	<i>Calluna vulgaris</i>		X				X					X	X	X
16.	<i>Bruckenthalia spiculifolia</i>		X				X					X	X	X
17.	<i>Erica carnea</i>		X				X					X	X	X
18.	<i>Empetrum nigrum</i>		X				X					X	X	X

— Pirolaceaele din România sînt foarte bogate în glicozide fenolice, dintre acestea *Pirola secunda* conține 5 glicozide.

— Pe baza răspîndirii glicozidelor fenolice și a naturii acestora, la plantele din ord. Ericales s-au făcut unele observații chemotaxonomice, privind poziția sistematică a diferitelor unități din interiorul Ordinului.

*Sosit la redacție: 16 februarie 1971.*

### *Bibliografie*

Bibliografia a fost publicată în partea teoretică (Rev. Med. 1971, 17, 1, 77).

---