

## DOZAREA FLUOROMETRICĂ ŞI SPECTROFOTOMETRICĂ A UMBELIFERONEI IZOLATE DIN RĂDĂCINA DE ANGELICA ARCHANGELICA L.

Ilona Kiss, G. Rácz

Specia *Angelica archangelica* L., monument al naturii în țara noastră, se evidențiază pe lângă uleiul volatil și prin conținutul relativ ridicat în cumarine și furocumarine (2—5). Umbeliferona — unul dintre reprezentanții acestor compuși — asigură efectul antinociviv al rădăcinii de angelica (7). În literatura de specialitate sînt unele controverse în privința conținutului rădăcinii în umbeliferonă, scopul nostru fiind elaborarea unei metode de izolare a acestui compus. Derivații cumarinici prezintă o fluorescență caracteristică și în soluție alcoolică neutră (1, 6), pe baza acestei proprietăți am studiat posibilitatea de dozare a umbeliferonei.

### Metodă și discuții

Din rădăcinile uscate de angelica de doi ani, s-a efectuat o extracție conform tehnicii de mai jos:

50 g rădăcină uscată mărunțită (II) se tratează cu 100 ml apă fierbinte, și se lasă în repaus la temperatura camerei timp de o oră, apoi se filtrează și se repetă extracția cu încă un volum de 50 ml apă fierbinte în condițiile amintite. Filtratele apoase reunite (F<sub>1</sub>) se extrag de trei ori cu cîte 150 ml acetat de etil. Frația de acetat de etil (F<sub>2</sub>) rezultată în volum de cca 450 ml se concentrează la un volum de cca 100 ml și apoi se extrage de trei ori cu cîte 100 ml soluție de NaHCO<sub>3</sub> 5%. Frația de extract etil acetic rămasă după tratarea cu NaHCO<sub>3</sub> 5% (F<sub>3</sub>) se mai spală de cîteva ori cu cantități mici de apă distilată, apoi se concentrează în vid (aparatură Rotavapor).

Se obține un reziduu de culoare galben-brun cu miros caracteristic în cantitate de 0,195 g (0,39%).

Aceste operații de separare sînt redade în schema nr. 1. Reziduu obținut se dizolvă în 10 ml apă distilată, soluția rezultată prezintă o fluorescență intens albastră și servește pentru dozări fluorometrice respectiv înregistrări în UV. Izolarea umbeliferonei din această soluție se realizează prin metoda cromatografiei preparative în strat subțire, aplicînd cantități între 0,08—0,10 ml. Condițiile de lucru sînt redade în schema nr. 1. Spotul cu valoare R<sub>f</sub> și fluorescență caracteristică etalonului de umbeliferonă, după delimitare se îndepărtează și se agită cu 10 ml ames-

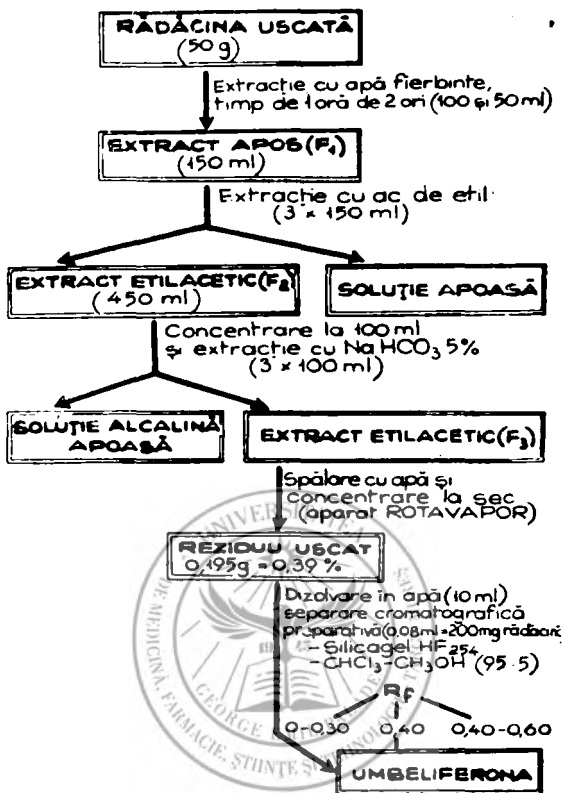


Fig. nr. 1: Operațiunile efectuate în vederea izolării umbeliferonei

tec etanol 96°-acetonă (1:1). Extracția se mai repetă de patru ori cu câte 10 ml amestec amintit. Cantitatea minimă de silicagel extrasă, se îndepărtează prin filtrări repetate.

#### a. Determinarea fluorometrică

Filtratele se completează la 50 ml, pipetind din acestea pentru dozări câte 5 ml care apoi se diluează la 25 ml cu amestecul de etanol 96° — acetonă (1:1). Fluorescența albastră se determină față de proba martor (amestecul de solvent), la spectrofotometrul SPEKOL cu dispozitiv de fluorometrie FK și amplificator suplimentar. Conținutul rădăcinii în umbeliferonă se determină pe baza curbei de calibrare, obținută pentru o serie de concentrații etalon (0,2—4,0 μg/8 ml). Curba de etalonare este redată în figura nr. 2. Fixarea arbitrară a fluorescenței maxime (T=100%)

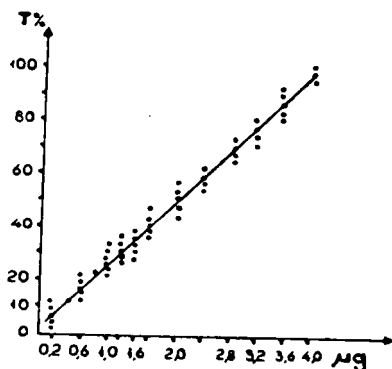


Fig. nr. 2: Curba de calibrare a umbeliferonei dozată fluorometric

se face la concentrație de 4  $\mu\text{g}/8$  ml. Rezultatele acestor determinări sînt redată în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Rezultatele dozării umbeliferonei prin metoda fluorometrică

Cantitatea de umbeliferonă ( $\mu\text{g}$ )	Fluorescența T%	Ecuatia dreptei de calibrare
0.2	5	$b = 24,30$ $s_b = \pm 0,314$ $a = 1,40$ $s_a = \pm 0,727$ $s_{0.1} = \pm 1,264$ $r = 0,999$ $y = (24,30 \pm 0,314)x + (1,40 \pm 0,727)$
0.6	16	
1.0	25	
1.2	30	
1.4	37	
1.6	40	
2.0	52	
2.4	60	
2.8	70	
3.2	78	
3.6	87	
4.0	100	

b. Determinarea spectrofotometrică

În scopul dozării spectrofotometrice a umbeliferonei izolate, se înregistrează spectrul unei soluții etalon de umbeliferonă de concentrație de 1  $\text{mg}/\%$ , între 200—350 nm. Dintre cele cinci maxime de absorbție (figura nr. 3), în scopul evaluărilor cantitative, înregistrările se efectuează la 325 nm. Curba de etalonare, redată în figura nr. 4 servește pentru determinarea acestui compus din rădăcina de angelica.

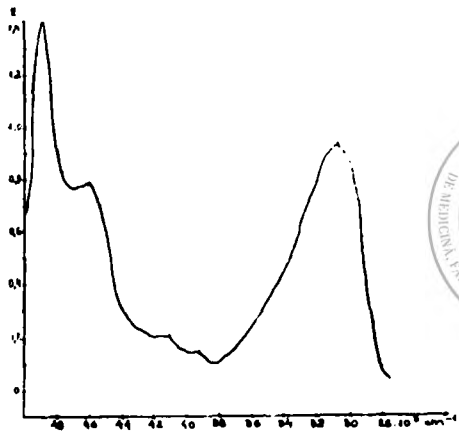


Fig. nr. 3: Spectrul de observație în UV al umbeliferonei

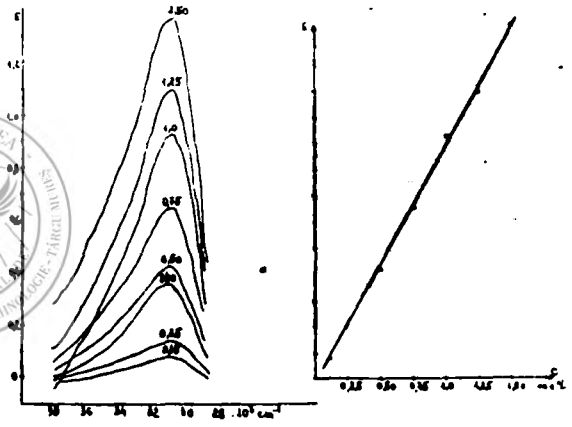


Fig. nr. 4: Spectrele de absorbție ale seriei etalon de umbeliferonă

## Concluzii

1. Metoda fluorometrică de dozare elaborată are o sensibilitate mare (0,2 µg/8 ml) și o reproductibilitate bună, putînd fi combinată cu separările cromatografice a substanței de dozat. Coeficientul de corelație a dreptei de calibrare este excelentă ( $r = 0,999$ ), iar eroarea seriei de determinări  $s_0 = \pm 1,264$ .

2. Înregistrările spectrofotometrice în domeniul UV la lungimea de undă de 325 nm, asigură o dozare mai ușor realizabilă, metoda prezintă însă o sensibilitate mai mică (8 µg/ 8 ml).

3. Conținutul în umbeliferonă determinată de noi în rădăcina uscată de doi ani este de 18, respectiv 20 mg<sup>0/100</sup>.

## Bibliografie

1. Calabrio C., Curo Paola: *Essenze Deriv. Agrum.* (1975), 45, 3/4, 246 ref. C.A. (1976), 85, 130355 k; 2. Carbonnier J., Patianoff O., Molho D.: vol. de rezumate: 2<sup>eme</sup> Symposium International sur les Ombelliferes; Contributions Pluridisciplinaires a la Systematique, Perpignan, 1977, 535; 3. Carbonnier J., Molho D.: *Planta Medica* (1982), 44, 3, 162; 4. Frohne D., Jensen U.: *Systematik der Pflanzenreiches unter besonderer Berücksichtigung chemischer Merkmale und pflanzlicher Drogen*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1975, 177; 5. Heywood V. H.: *Biology and chemistry of the Umbelliferae*, Published Linnean Society, Academic Press, London, 1971, 385; 6. Than Henry S. I., Ritschel Wolfgang A., Sanders Phyllis A. J.: *Pharm. Sci.* (1976), 65, 1, 30; 7. Tanaka S., Ikeshiro Y., Tabata M., Konoshima N.: *Arzneim. Forsch.* (1977), 27, 11, 2039.

Sosit la redacție: 14 mai 1984

Ilona Kiss, G. Rácz

## FLUORMETRICAL AND SPECTROPHOTOMETRICAL ASSAY OF UMBELLIFERONE ISOLATED FROM THE ROOT OF ANGELICA ARCHANGELICA L.

Our method consists in separating umbelliferone from aqueous extractive solution by preparative thin-layer chromatography, after which the isolated compound is assayed according to absorption or fluorescence in UV.

The fluorometrical assays are carried out at a radiation of excitation (mercury vapour lamp) = 366 nm. The method can be easily reproduced and it has great sensitivity (0.2 µg/8 ml).

The spectrophotometrical recordings are made at 325 nm. The umbelliferone content of the angelica root determined through the two methods is 18 mg%, and 20 mg%, respectively.