

# IZOLAREA COPTIZINEI DIN HERBĂ DE ROSTOPASCĂ (*CHELIDONIUM MAJUS L.*)



DR. CONF. CERC. IGOR CASIAN,  
USMF „N. TESTEMIȚANU”,  
CENTRUL ȘTIINȚIFIC ÎN  
DOMENIUL MEDICAMENTULUI



DR. ANA CASIAN,  
USMF „N. TESTEMIȚANU”,  
CENTRUL ȘTIINȚIFIC ÎN  
DOMENIUL MEDICAMENTULUI

## ACTUALITATEA TEMEI

HERBA DE ROSTOPASCĂ (*CHELIDONIUM MAJUS L.*, FAMILIA PAPAVERACEAE), CUNOSCUTĂ DIN ANTICHITATE, ESTE ȘI PÂNĂ ÎN PREZENT UN OBIECT ATRĂGĂTOR DE CERCETARE. PREZENȚA UNUI NUMĂR SEMNIFICATIV DE ALCALOIZI (CIRCA 30) DIN DIFERITE SUBGRUPE OFERĂ PLANTEI ȘI PRODUSELOR OBTINUTE DIN EA UN SPECTRU LARG DE ACȚIUNI FARMACOLOGICE: ANTIHEPATOTOXICĂ, COLERETICĂ, ANTIVIRALĂ, ANTIMICROBIANĂ, ANTIINFLAMATOARE, ANTITUMORALĂ Ș.A. [1].

Pe lângă acțiunile sale curative, planta posedă și efecte toxice. Toate acestea denotă necesitatea de a investiga mai profund acțiunile compușilor săi biologic activi, de a elucida mecanismele de acțiune farmacocinetică și farmacodinamică a lor, iar pentru aceasta este nevoie de a izola compușii biologic activi în formă de substanțe individuale.

Alcaloidul principal al părților aeriene de rostopască este coptizina (6,7-dihidrobis[1,3]-benzodioxolo[5,6-a:4'5'-g]chinolizină) [2], fapt ce ne permite să presupunem că efectele farmacologice de bază ale produselor extractive aparțin anume acestei substanțe. În literatură sunt descrise unele metode de

izolare a coptizinei cu utilizarea cromatografiei preparative [3] sau a extracției și reextracției în mai multe trepte [4]. Metodele descrise sunt însă laborioase, se utilizează solvenți toxici, costisitori și în cantități mari.

## OBIECTIVELE LUCRĂRII

Scopul prezentei lucrări constă în elaborarea unui procedeu simplu, ieftin și eficient de izolare a coptizinei din herba de rostopască (*Chelidonium majus L.*), aplicabil în industria chimico-farmaceutică.

## MATERIALE ȘI METODE

În studiu s-au folosit părțile aeriene ale produsului vegetal de rostopască (*Chelidonium majus L.*), recoltate din flora spontană în faza de înflorire și uscate în încăperi bine aerisite.

Analiza produsului vegetal, a extractelor și săruurilor de coptizină s-a efectuat utilizând cromatograful de lichide Jasco seria LC-2000, dotat cu detector UV cu șir de diode (DAD) [2].

Reactivele și solvenții pentru HPLC au fost procurate de la firma “Sigma”.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Analiza preventivă a mostrelor herbei de rostopască, colectate în regiunea de centru a Republicii Moldova, a arătat că conținutul de coptizină (recalculat la masă uscată) în părțile aeriene înflorite ale plantei constituie 3-7 mg/g, pe când la începutul perioadei de fructificare atinge cantitatea de 8-12 mg/g. Însă, din cauza fixării strânse pe matrice, conținutul de coptizină extrasă de facto este mai mic față de cazul când se utilizează produsul vegetal, colectat în faza de înflorire. Pentru obținerea extractului, am utilizat extracția la temperatură înaltă [5], însă se pot aplica și alte metode, care asigură un volum suficient de extracție a coptizinei, cum este, de exemplu, metoda Squibb [6]. În calitate de extragent, se folosește alcoolul etilic de 80%. Concentrația dată este optimă, fiindcă micșorarea sa duce la scăderea randamentului bisulfatului de coptizină din extract, iar majorarea – la scăderea capacității de extracție a coptizinei din materia primă vegetală.

### OBȚINEREA EXTRACTULUI DE ROSTOPASCĂ

În extractor se încărcă, bătătorindu-se ușor, circa 0,5 kg de herbă de rostopască uscată și fragmentată. Extracția se efectuează cu alcool etilic de 80% la temperatura de 70-75°C și viteză de alimentare de 500-700 ml/oră până la obținerea a 1,8-2,0 l de extract primar. După aceasta, alcoolul se recuperează din șrot cu vapori de apă. Plenitudinea extracției coptizinei constituie circa 60%. Se obține extractul fluid, ce conține 0,7-1,1 g/l coptizină (în dependență de calitatea materiei prime) și circa 77% etanol.

### OBȚINEREA BISULFATULUI DE COPTIZINĂ

La extractul obținut se adaugă, amestecând intensiv, acid sulfuric concentrat până la pH-ul 3,0-3,5 (se controlează prin metoda potențiometrică). Extractul se lasă pentru coagulare și sedimentare timp de 16-24 de ore la temperatura de +2 – +8°C, apoi se filtrează sau centrifughează timp de 5-10 min. la accelerarea de 500-1000 g. Prin aceasta, din extract se elimină o parte semnificativă de substanțe balast. La filtrat (sau centrifugat) se adaugă, amestecând intensiv, acid sulfuric concentrat până la pH-ul 1,0-1,2 (potențiometric) și se lasă pe 12-18 ore la temperatura camerei pentru cristalizarea coptizinei în formă de bisulfat. Cea mai mare parte de lichid se decantează, iar precipitatul se separă pe filtru de

sticlă cu porozitate medie, se spală cu 10-15 ml de alcool etilic de 80%, după care cu 10-12 ml de apă, apoi cu 20-30 ml de alcool etilic de 96% și se usucă la temperatura de 40-50°C. Se obține 1,2-1,7 g bisulfat de coptizină (în dependență de calitatea materiei prime). Randamentul coptizinei la etapa dată este de circa 75% de la valoarea teoretică.

Alcoolul etilic din extractul epuizat și lichidele de spălare se recuperează prin rectificare și pot fi utilizate repetat la extracția produsului vegetal.

### CARACTERISTICA PRODUSULUI BISULFAT DE COPTIZINĂ

Produsul obținut prezintă o pulbere cristalină de culoare galben-portocaliu până la portocaliu-închis, fără miros, cu gust amar, care conține nu mai puțin de 80% bisulfat de coptizină și sulfați neorganici în calitate de substanțe înrudite de bază. Substanța mai conține și alți alcaloizi (chelidonină, sanguinari-nă și berberină), extrași din materia primă, conținutul sumar al cărora nu depășește 5%.

Substanța este puțin solubilă în apă (circa 1:1000), foarte puțin solubilă în alcool etilic de 96% și alți solvenți organici polari, practic insolubilă în solvenți organici nepolari, precum cloroformul, hexanul ș.a. Soluțiile apoase au valoarea pH-ului de circa 2,0 și sunt opalescente, iar la păstrare se formează un precipitat neînsemnat sub forma de fulgi, care conține proteine și polizaharide, extrase din materia primă vegetală și denaturate sub acțiunea concomitentă a alcoolului și acidului puternic.

Pierderea de masă prin uscare la temperatura de 105-110°C este cel mult de 2,5% (produsul nu conține apă cristalină), iar reziduul prin calcinare depinde de calitatea materiei prime vegetale și poate atinge 15%. Punctul de topire nu poate fi determinat, pentru că la încălzire substanța se descompune treptat în intervalul de temperatură de aproximativ 280-350°C, fără topire.

Substanța bisulfat de coptizină poate fi utilizată la prepararea formelor farmaceutice solide cu acțiune hepatoprotectoare, administrate *per os*, însă poate fi purificată și transformată și în alte săruri de coptizină pentru utilizarea în diverse scopuri.

### OBȚINEREA BISULFATULUI DE COPTIZINĂ PURIFICAT

Pentru aceasta, 1,5 g de bisulfat de coptizină și 0,28 g de hidrogenocarbonat de sodiu se dizolvă

în 200 ml de apă, încălzită până la temperatura de 60°C. După răcire până la temperatura camerei, soluția se filtrează prin filtru de hârtie (panglica albăstră), apoi se încălzește până la 60°C și se adaugă 3 ml de acid sulfuric 9 Mol/l. La răcirea soluției până la temperatura camerei, se formează un precipitat cristalin, care se separă pe filtru de sticlă cu porozitatea medie, se spală cu 10-12 ml de apă, apoi cu 20-30 ml de alcool etilic de 96% și se usucă la temperatura de 40-50°C. Se obține circa 1,2 g de bisulfat de coptizină purificat.

Produsul obținut prezintă o pulbere cristalină de culoare galben-portocaliu, este puțin solubil în apă, cu formarea soluțiilor transparente. Substanța nu conține practic sulfați neorganici și impurități organice de origine străină, însă conține până la 3-4% săruri neutre (sulfat de coptizină) din cauza pierderii parțiale a ionilor de hidrogen la spălarea produsului. Acest conținut nu este stabil, de aceea substanța dată nu poate fi utilizată în calitate de substanță de referință pentru analiza cantitativă.

#### **OBȚINEREA CLORURII DE COPTIZINĂ**

Pentru aceasta, 1,5 g de bisulfat de coptizină purificat și 0,28 g de hidrogenocarbonat de sodiu se dizolvă în 200 ml de apă, încălzită până la temperatura de 60°C, apoi se adaugă 3 ml de acid clorhidric concentrat și se răcește până la temperatura camerei. Precipitatul cristalin obținut se separă pe filtru de sticlă cu porozitatea medie, se spală cu 10-12 ml de apă, apoi cu 20-30 ml de alcool etilic de 96%. Precipitatul se dizolvă în 250 ml de alcool etilic de 90% la încălzire până la fierbere, se adaugă 1 ml de acid clorhidric concentrat și se lasă timp de 16-24 de ore pentru cristalizare. Produsul cristalin se separă pe filtru de sticlă cu porozitatea medie, se spală cu 20-30 ml de alcool etilic de 96% și se usucă la temperatura de 40-50°C. Se obține circa 1,0 g clorură de coptizină.

#### **REFERINȚE**

1. WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS). *Herba Chelidonii*. 2010, p. 73-89

Substanța obținută prezintă o pulbere cristalină de culoare galben-portocaliu, foarte puțin solubilă în apă și alcool etilic de 96%, mai ușor solubilă în amestecuri de solvenți, de exemplu apă-acetonitril (1:1). Substanța conține cel puțin 99% de clorură de coptizină, este stabilă la păstrare și poate fi utilizată în calitate de substanță de referință pentru analiza cantitativă a materiei prime vegetale, a produselor extractive și sărurilor de coptizină.

#### **OBȚINEREA SULFATULUI DE COPTIZINĂ PENTAHIDRAT**

Pentru aceasta, 1,5 g de bisulfat de coptizină purificat și 0,28 g de hidrogenocarbonat de sodiu se dizolvă în 50 ml de apă la încălzire până la temperatura de 60°C. Soluția se răcește treptat până la 0-5°C, iar precipitatul cristalin format se separă pe filtru de sticlă cu porozitatea mare, se spală cu 3 porțiuni a câte 2 ml de apă răcită până la 0°C, apoi cu 20 ml de alcool etilic de 96% și se usucă la temperatura de 30-40°C. Se obține circa 1,3 g de sulfat de coptizină pentahidrat.

Produsul obținut prezintă o pulbere cristalină de culoare portocaliu-închis, are solubilitatea în apă aproape de 5 ori mai mare față de bisulfatul de coptizină, reacție neutră și poate fi utilizat pentru prepararea soluțiilor injectabile cu concentrația de până la 5 mg/ml.

#### **CONCLUZII**

A fost elaborat un procedeu simplu și economic de izolare a coptizinei în formă de bisulfat din extractele hidroalcoolice ale herbei de rostopască cu posibilitatea transformării ulterioare în alte săruri de coptizină.

Izolarea compusului activ individual va permite investigarea mai profundă a unor acțiuni farmacologice prescrise coptizinei și implementarea ei în industria farmaceutică.

2. CASIAN, I., DIUG, O., DIUG, E., NISTREANU, A. *Dozarea coptizinei în produsele vegetale și extractive din specia Chelidonium majus L.* Conferința științifică anuală "Ziua medicamentului la INF". Chișinău, 2003, p. 186-194

3. АРТАМОНОВА, Е.С. *Современные подходы к стандартизации сырья и препаратов чистотела большого*. Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы III Всероссийской конференции, кн. 2. Барнаул, 2007, стр. 267-270

4. ИВАХНО, С.Ю., ГОЛОВАНОВА, Л.В., СТАНИЛОВСКАЯ, Е.В. *Способ получения коптизина*. Патент Российской Федерации № 2088248 от 25.03.1994

5. CASIAN, I., TODIRAȘ, M., CASIAN, A. și al. *Obținerea extractului fluid și a siropului de păducel cu acțiune antihipertensivă*. In: Intellectus, 2011, nr. 2, p. 103-108

6. DIUG, O., CASIAN, I., DIUG, E.și al. *Studiul extracției coptizinei din Chelidonium majus L*. Revista medico-chirurgicală a societății de medici și naturaliști. Iași, 2003, v. 107, nr. 2, suplimentul 1, p. 26-29

## REZUMAT

În prezenta lucrare este descris un nou procedeu de izolare a coptizinei în formă de bisulfat din extractele hidroalcoolice ale herbei de rostopască. Procedeu constă în purificarea preliminară a extractului vegetal prin tratarea cu acid sulfuric la pH-ul 3,0-3,5 și cristalizarea ulterioară a bisulfatului de coptizină la pH-ul 1,0-1,2. Procedeu elaborat este simplu, economic și va permite investigarea mai profundă a unor acțiuni farmacologice prescrise coptizinei, precum și implementarea acestei substanțe în industria farmaceutică.

De asemenea, sunt descrise procedeele de purificare a bisulfatului de coptizină și transformarea acestuia în alte săruri de coptizină, cum sunt, de exemplu, sulfatul și clorura. Clorura de coptizină are compoziția cea mai stabilă și poate fi utilizată în calitate de substanță de referință. Au fost studiate proprietățile fizico-chimice ale substanțelor obținute.

**Cuvinte-cheie:** *Chelidonium majus L.*, izolarea coptizinei, bisulfat de coptizină, sulfat de coptizină, clorură de coptizină.

## ABSTRACT

A new way of coptisine isolation in the form of bisulphate from hydro-alcoholic extracts of the Chelidonium herb is described in the present work. The process consists in prerefining the plant extract by sulphuric-acid treatment at pH 3.0-3.5 followed by the coptisine bisulphate crystallization at pH 1.0-1.2. The developed procedure is quite simple and economic and will allow to investigate more deeply some pharmacological effects, attributed to coptisine, and to introduce this substance in the pharmaceutical industry.

There are also described the processes for bisulphate purification from coptisine and its transformation in other salts, such as sulphate and chloride. Having the most stable composition, coptisine chloride can be used as a reference substance. Physical and chemical properties of obtained substances have been studied.

**Keywords:** *Chelidonium majus L.*, coptisine isolation, coptisine bisulphate, coptisine sulphate, coptisine chloride.