

DERIVADOS DE QUERCETINA Y MIRICETINA EN SEMILLAS DE Myrtus communis, L.

T. Martín, A.M. Díaz, B. Rubio, M.P. Velázquez y M. González.
Laboratorio de Farmacognosia. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares.

INTRODUCCION

Myrtus communis, L. (Familia *Mirtaceae*), popularmente llamada "mirto" o "arrayán", es una planta característica de la Región Mediterránea.

Los frutos de esta especie son ricos en compuestos fenólicos (antocianos, ácidos fenólicos y flavonoides principalmente) [1] que son los responsables de su actividad farmacológica [2].

EXTRACCION Y PURIFICACION

Las semillas de Myrtus communis, L., desecadas y pulverizadas se extraen por percolación con Metanol/Agua (60:40 v/v). El extracto hidroalcohólico se extrae por cambio de disolvente con éter etílico y alcohol *n*-butílico.

El extracto butanólico se purifica por CC de Poliamida utilizando para su elución un gradiente de Metanol/Agua 20% a Metanol.

ANALISIS

Las fracciones eluidas a partir del extracto butanólico se analizan por CCF sobre celulosa utilizando como fase móvil Acetato de etilo/Ácido acético/Ácido Fórmico/Agua (100/11/11/27 v/v).

En las fracciones obtenidas con Metanol/Agua 60% se pone de manifiesto la presencia de heterósidos flavónicos. Dada la complejidad de estas fracciones se unifican y se analizan por cromatografía líquida de media presión (MPLC) [RP 18 (25-40 μ)] utilizando un gradiente de Metanol/Agua 40% a Metanol 80%.

El control de las fracciones obtenidas se realiza por CCF de celulosa, en las condiciones anteriormente expuestas, y pone de manifiesto la presencia de 2 heterósidos flavónicos mayoritarios [3].

El análisis de estos compuestos se realiza por CCF de celulosa utilizando como eluyentes TBA (t-butanol/Acido acético/Agua (3/1/1 v/v) y Acido acético/Agua 15% [3]. Los datos cromatográficos obtenidos para estos compuestos se muestran en la Tabla I.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION

Los compuestos flavónicos se aislan por CCF preparativa bidimensional utilizando como eluyentes TBA ya Acido acético/Agua 15% para el 1º y 2º desarrollos respectivamente y se identifican por espectroscopía uv/v clásica para este tipo de compuestos [4] (Tabla II) y por comparación con patrones de referencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos cromatográficos y espectrofotométricos permiten la identificación de 2 sustancias denominadas A y B como Quercetín 3-O-ramnósido y Miricetín 3-O-ramnoglucósido respectivamente.

La identidad de estos compuestos se confirma por hidrólisis con HCl 2N, a 100°C durante 1 hora.

BIBLIOGRAFIA

- [1] T. MARTIN, L. VILLAESCUSA, M. DE SOTTO, A. LUCIA y A.M. DIAZ. (1990). *Fitoterapia*, Vol LXI, 1, 85.
- [2] DIAZ A.M. y ABEGER A. (1987). *Fitoterapia*, 3, 167-174.
- [3] HARBORNE J.B. "Comparative Biochemistry of the Flavonoids". Academic Press. New York, 1967.
- [4] MABRY T.J., MARKHAM K.R. "The Systematic Identification of Flavonoids". Springer Verlag. New York, 1970.

TABLA I: Datos cromatográficos de los heterósidos flavónicos aislados.-

	<u>T.B.A.</u>	<u>AcOH 15%</u>
SUSTANCIA A	61	58
SUSTANCIA B	76	47

TABLA II: Datos espectrofotométricos de los heterósidos flavónicos aislados.-

λ max. (nm)

<u>SUSTANCIA A</u>	<u>MeOH:</u>	256, (265), (301), 350
	<u>MeOH + MeONa:</u>	270, 326, 393
	<u>AlCl₃:</u>	276, (304), 333, 430
	<u>AlCl₃ + HCl:</u>	272, (303), 353, 401
	<u>NaOAc:</u>	272, (322), 372
	<u>NaOAc + H₃BO₃:</u>	260, (300), 367

<u>SUSTANCIA B</u>	<u>MeOH:</u>	260, (284), 299, 352
	<u>MeOH + MeONa:</u>	(252), (295)
	<u>AlCl₃:</u>	268, (310), 425
	<u>AlCl₃ + HCl:</u>	270, (302), (315), 402
	<u>NaOAc:</u>	269, (324), 375
	<u>NaOAc + H₃BO₃:</u>	259, (300), 372

(): inflexión.

EFFETTI DELL' OLIO ESSENZIALE DI SALVIA DESOLEANA E SALVIA SCLAREA SUL SNC

Alessandra Peana e Margherita Satta
Cattedra di Farmacognosia - Universita' di Sassari - Italy

Riassunto

Gli oli essenziali ottenuti dalle foglie della Salvia desoleana A. & P. e la Salvia sclarea L. saggiati sul topo possiedono entrambi effetti deprimenti sul SNC evidenziabili con la riduzione dell'attivita' motoria spontanea, della attivita' esplorativa, la coordinazione motoria, l'interazione tra farmaci e il potenziamento da sonno.

Introduzione

La Salvia desoleana A. & P. e la Salvia sclarea L. trovano largo impiego nella medicina popolare sarda per la cura di diverse patologie (2,7).

Le prime indagini da noi condotte sugli oli essenziali ottenuti dalle foglie hanno messo in evidenza un effetto antiinfiammatorio ed analgesico periferico (7).

In considerazione del fatto che alcuni autori misero in evidenza che l'olio essenziale della Salvia sclarea possiede attivita' deprimente sul SNC nel topo, ci e' sembrato interessante studiare comparativamente detta attivita' degli oli delle due specie di Salvia (1).

Le presenti indagini riguardano gli effetti sulla attivita' spontanea, esplorativa, coordinazione motoria, azione anticonvulsivante e il potenziamento da sonno.

Parte sperimentale

Materiali e metodi

Per tutti gli esperimenti sono stati utilizzati topi albini di ceppo Swiss, di sesso maschile del peso di 18-25g. Gli oli sciolti in Peg 200 sono stati somministrati per via sottocutanea alla dose di 350 mg/kg per tutti i test ed alla dose di 25 mg/kg per il potenziamento da sonno.

Attivita' motoria spontanea

Sono state utilizzate gabbie che simili a quelle descritte da Raphaelson e Rabin (10), registrano su un contatore il numero di movimenti compiuti dagli animali. Gruppi di 5 topi sono posti nelle apposite gabbie subito dopo la somministrazione dell'olio. La misurazione della motilita' spontanea viene effettuata dopo 30 minuti dal trattamento con rivelazioni ogni 30 minuti, durante 3 ore.

Nella Tab.I e Fig.1 sono riportati i valori medi e le variazioni dei movimenti rispetto agli animali di controllo.

Attivita' esplorativa

E' stata valutata secondo il test di Boissier e Simon (3), utilizzando una tavola di 37x37 cm, con 16 fori equidistanti in cui ogni animale viene tenuto per 5 minuti, rilevando il numero di fori esplorati.

Nella Tab.II e Fig.2 e' riportata la media dei fori esplorati e l'inibizione percentuale.

Attivita' sulla coordinazione motoria

E' stata eseguita secondo il metodo di Kinnard e Coll. '5' utilizzando un apparecchio (Rota Rod-Basile) rotante alla velocita' di 16 giri p.m.

Sei ore prima del trattamento venivano scelti quegli animali che riuscivano a permanere sulla barra rotante per un tempo superiore a 120 secondi. Questi considerati come controlli, venivano successivamente sottoposti al saggio 30 minuti dopo la somministrazione degli oli. Nella Tab.II e Fig.3 sono riportati i topi che rimanevano sulla barra rotante per un tempo inferiore ai 120" (non coordinati).

Attivita' antistricnina

E' stata valutata secondo il metodo di Morpurgo '6', rilevando la protezione nei confronti delle convulsioni tonico cloniche indotte dalla somministrazione di una dose mortale di stricnina (pari a 2.5 mg/kg per via intraperitoneale). Nella Tab.III e Fig.4 e' indicato il numero di animali sopravvissuti entro 5 min. dal trattamento con stricnina.

Attivita' anticardiazolo

Detta attivita' e' stata effettuata secondo il metodo di Desmedt e Coll. '4'. L'antagonismo alle convulsioni indotte nel topo dal Cardiazolo viene utilizzato quale base per la valutazione della attivita' anticonvulsivante ed ansiolitica. I risultati della Tab.III e Fig.4 esprimono il numero degli animali sopravvissuti 15 min. dopo la somministrazione per via intraperitoneale di 100 mg/kg di Cardiazolo.

Potenziamento da sonno

Per questo test gli animali vengono trattati 30 min. prima con gli oli essenziali alla dose di 25 mg/kg e successivamente con esobarbitale (100 mg/kg per via intraperitoneale) '6'.

Nella Tab. IV e Fig.5 e' espresso il tempo medio del sonno e l'aumento percentuale del sonno rispetto ai controlli.

Gli animali di controllo ricevono solo l'esobarbitale.

In tutti i test i controlli ricevevano sempre il Peg 200.

Risultati e conclusioni

Entrambi gli oli producono nel topo incordinazione motoria e sedazione, riducono l'attivita' spontanea, esplorativa e proteggono da dosi mortali di Pentetrazolo e Stricnina. Entrambi potenziano marcatamente gli effetti narcotici dell' Esobarbitale. Rilevante risulta la riduzione dell' attivita' esplorativa per effetto dell' olio essenziale della S. desoleana.

Entrambi meritano di essere studiati ulteriormente al fine di conoscere meglio l'attività farmacologica ed identificarne i principi attivi responsabili di detta attività'.

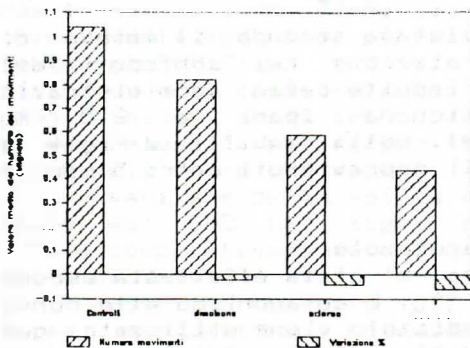
Tab. I

ATTIVITA' MOTORIA SPONTANEA

COMPOSTO	DOSE mg/Kg s.c.	NUMERO DEI MOVIMENTI			DOPO			VALORE MEDIO	VARIAZIONE
		120'	150'	180'	120'	150'	180'		
Controlli		1303	1072	77	1113	995	821	1043	
Salvia desoleana	350	1224	952		412			823	-21
Salvia sclarea	350		690	471	4	434	1	590	
Diazepam	5	358	458	510	628	200	4		-58

Fig. 1

ATTIVITA' MOTORIA SPONTANEA



Tab. II

ATTIVITA' ESPLORATIVA E COORDINAZIONE MOTORIA

Composto	Dose mg/Kg s.c.	Attività esplorativa		Attività sulla coordinazione motoria	
		P. esplorati media ± s.s.	Variazione %	An. li	Animali trattati
Controlli		20.80±2.95	—	0	5
Salvia desoleana	350	8.40±0.98	-60	5	5
Salvia sclarea		13.60±2.61	-35	3	5
Diazepam	5	6.40±2.15	-69	5	5

Fig. 3

ATTIVITA' SULLA COORDINAZIONE MOTORIA

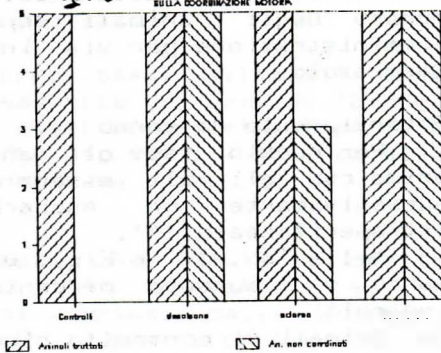
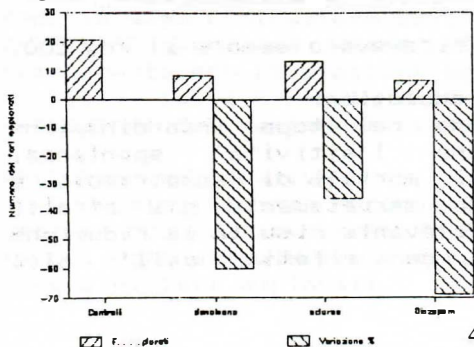


Fig. 2

ATTIVITA' ESPLORATIVA



Tab. III INTERAZIONE FRA FARMACI

COMPOSTO	Dose mg/Kg s.c.	Animali sopravvissuti dopo somministrazione di	
		Stricnina (2,5 mg/Kg)	Cardiazolo (100 mg/Kg)
Controlli		0/5	0/5
Salvia dolceana	350	1/5	3/5
Salvia sciarra	350	2/5	2/5
Diazepam	10 mg/Kg s.c.	4/5	5/5

Fig. 4 INTERAZIONE TRA FARMACI
Protezione da Stricnina e Cardiazolo

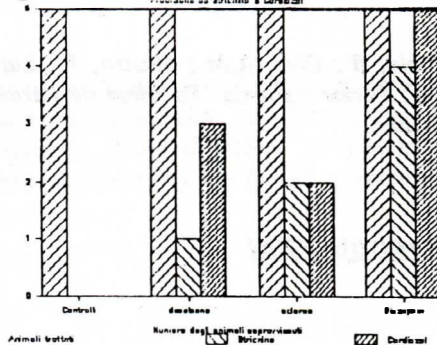
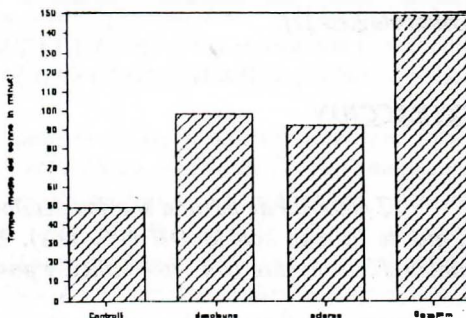


Fig. 5

POTENZIAMENTO DA SONNO CON ESOBARBITALE



Tab. IV

POTENZIAMENTO DA SONNO CON ESOBARBITALE (100 mg/Kg I.P.)

COMPOSTO	DOSE mg/Kg s.c.	TEMPO MEDIO DEL SONNO in minuti ± S.E.	VARIAZIONE %
Controlli	---	48.83 ± 5.25	---
Salvia dolceana	25	98.20 ± 17.32	101
Salvia sciarra	25	92.60 ± 13.33	90
Diazepam	2.5	148.80 ± 26.41	205

Bibliografia:

- 1) Atanasova-Shopova S., Rusinov K., 1970. Izv. Inst. Fiziol. Bulg. Akad. Nauk Vol. N°13: 89
- 2) Atzei A. D., Picci V., 1982. Webbia Vol. N° 36(1): 71-78
- 3) Boissier J.R., Simon P., 1964. Arch. Int. Pharmacodyn. Vol. N°147: 372
- 4) Desmedt L.K.C., Niemegeers C.J.E., Levi P.I., Janssen P.A.G. 1976. Arzneim. Forsch. Vol. N°26: 1592
- 5) Kinnard W.I., Carr C., 1957. J Pharmacol. Exp. Ther. Vol. N°121:
- 6) Lisciani R., Baldini A., Silvestrini B. 1982. Arzneim. Forsch. Vol. N°32: 674
- 7) Marchioni A. R., Distefano F. C., 1989. Le piante medicinali della Sardegna: 186, 190
- 8) Morpurgo C., 1971. Arzneim. Forsch. Vol. N°21: 1727
- 9) Peana A., Satta M., Pharmacological Research Communications VI Congresso della Societ Italiana di Farmacognosia, Roma 9-12 Ottobre 1991 (In corso di stampa).
- 10) Raphaelson A.C., Rabin B.N., 1964. Amer. J. Psychol. Vol. N°77: 493.