

GENETICA, BIOLOGIA MOLECULAR ȘI AMELIORAREA

CONȚINUTUL ȘI COMPONENTA ULEIULUI ESENȚIAL LA SPECII DE *HYPERICUM* L. (SUNȚOARE) DIN FLORA SPONTANĂ A REPUBLICII MOLDOVA

Benea Anna^{1,3}, Goncariuc Maria², Kulci ki Veaceslav³
Dragalin Ion³, Nisteanu Anatolie¹

¹Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,

²Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei,

³Institutului de Chimie al Academiei de Științe a Moldovei

Rezumat

Speciile genului *Hypericum* L. din flora spontană a Republicii Moldova se deosebesc prin conținutul și componența uleiului esențial obținut prin hidrodistilare în aparate Ginsberg din partea aeriană a plantei (*Hyperici herba*). *H. perforatum* conține în *herba* 0.26% (s.u.) ulei esențial, *H. elegans* – 0.15% (s.u.), *H. hirsutum* – 0.094% (s.u.) și *H. tetrapterum* – 0.13% (s.u.). Analiza GC-MS a uleiului esențial a demonstrat deosebiri substanțiale atât cantitative cât și calitative. Numărul componentelor identificați în uleiul esențial al diferitor specii de *Hypericum* este diferit. În uleiul esențial separat din *H. perforatum* L. s-au identificați 33 componente, β -cariofilen și cariofilen oxid în concentrații de peste 12% fiind componentii majori, urmați de α -pinen (8.574%), β -cadinen (4.155%) și β -pinen (3.216). La *H. elegans* în uleiul esențial au fost identificați 18 componente, g-gurjunen, aromadendren și undecan fiind componentii majori în concentrații de 14.532, 13.990 și 10.262 %, respectiv. La specia *H. tetrapterum* s-au identificat în uleiul esențial

21 componenți, iar componenții majori sunt copaen (9.271%), α -longipinen (8.489%) urmați de cadinen (6.423%). În uleiul esențial al speciei *H. hirsutum* au fost identificați numai 9 componenți, concentrații mai ridicate fiind atestate la cariofilen oxid (10.435%), phytol (6.056%), α -cariofilen (5.086) și undecan (4.279).

Cuvinte-cheie: *Hypericum* L., specie, ulei esențial, componenți

Depus la redacție 08 februarie 2013

Adres pentru corespondență : Benea Ana, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, str. Malina Mică, 66, MD-2025 Chișinău, Republica Moldova; e-mail: anababara@rambler.ru; tel. (+373 22) 205 495.

Introducere

Genul *Hypericum* L. (sunătoarea) din familia *Hypericaceae* cuprinde cca 460 specii comune pentru toate continentele [12]. Formele vitale sunt arbori, arbuști și erbacee perene. În flora spontană a Republicii Moldova sunt atestate 5 specii ale genului *Hypericum* L.: *Hypericum perforatum* L., *Hypericum elegans* Steph., *Hypericum hirsutum* L., *Hypericum tetrapterum* Fries. și *Hypericum montanum* L. [13].

În Farmacopeea Europeană [5] și în Farmacopeea Română [7] pentru obținerea produsului vegetal farmaceutic este admisă specia *Hypericum perforatum* L.

Multiple studii chimice ale părții aeriene de *H. perforatum* au demonstrat conținutul diverselor grupuri de principii biologice active: flavonozide, derivați ai antracenului, substanțe tanante, ulei esențial [20,21,24]. Datorită acestor principii *Hyperici herba* posedă diverse acțiuni farmacologice: antioxidantă [20], antimicrobiană [4], antidepressivă [22,24], antiinflamatoare [23], antiulceroasă, colagogă [23].

H. perforatum se caracterizează prin prezența diferitelor tipuri de structuri secretoare: glande translucide sau cavități, noduli negri și trei tipuri de canale secretoare (A, B, C). Uleiul volatil se sintetizează și se acumulează în glandele translucide și în canalele secretoare, care pot fi localizate în frunze, petale, sepale și pistil [3]. Frecvența și diversitatea acestor structuri este o dovadă a activității secretorii intense a speciei. Este demonstrată prezența glandelor translucide, canalelor secretoare și în speciile *H. hirsutum*, *H. tetrapterum* [8]. Despre conținutul și compoziția chimică a uleiului esențial din speciile *H. elegans*, *H. hirsutum* și *H. tetrapterum* însă relatează puține surse bibliografice.

Reieșind din cele expuse este actual de analizat randamentul și compoziția uleiului esențial izolat din partea aeriană a plantei în faza de înflorire a speciilor - *H. perforatum*, *H. elegans*, *H. hirsutum*, *H. tetrapterum* din flora spontană a Republicii Moldova.

Materiale i metode

Produsul vegetal este reprezentat de speciile *H. perforatum*, *H. hirsutum*, *H. tetrapterum*, partea aeriană a plantei, colectat în faza de înflorire în flora rezervației științifice „Codru” a Republicii Moldova, iar *H. elegans* - în pădurea din apropierea satului Târnova, din nordul țării. Identificarea speciilor s-a efectuat în laboratorul rezervației științifice „Codru”. Uscarea s-a efectuat natural în spațiu acoperit, bine aerisit.

Uleiul volatil s-a obținut în aparate Ginsberg prin hidrodistilare timp de 3 ore. Rezultatele obținute s-au recalculat la substanță uscată. Mostrele de ulei esențial au fost deshidratate cu Na_2SO_4 anhidru și s-au păstrat în congelator. Analiza cantitativă și calitativă a uleiului esențial s-a efectuat prin gaz cromatografie cu spectrometrie de masă

(GC-MS) care au fost realizate cu ajutorul aparatului Agilent Technologies tip 7890 A GC system, MS Agilent Technologies tip 5975 C Mass Selective Detector; Coloana HP 5MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m (5 % Phetylmethylsiloxane). Separarea s-a realizat în următoarele condiții cromatografice: temperatura injectorului 250°C, temperatura detectorului 280°C; regim de temperatură - 250°C (10 grade/min) până la 280°C (const. 5,5min); faza mobilă - heliu 1ml/min; volum injectat - 0,1 μ l ulei volatil. Analiza datelor cromatografice a fost realizată cu sistemul SOFTWARE de identificare și deconvoluție spectrală automată a spectrelor de masă AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution & Identification System), produs de NIST.

Rezultate i discu ii

În rezultatul cercetărilor efectuate s-a constatat că toate speciile evaluate de *Hypericum* sintetizează și acumulează în partea aeriană a plantei ulei esențial, or conținutul acestuia în faza de înflorire este diferit la diferite specii. Cel mai ridicat conținut de ulei esențial a fost atestat la *H. perforatum* – 0.26% (s.u.). *Herba* de *H. elegans* conține 0.15% (s.u.). *H. tetrapterum* conține 0.13%(s.u.) ulei esențial, iar la *H. hirsutum* acest indice este cel mai jos – 0.094% (s.u.).

În uleiul esențial din specia *H. perforatum* L. s-au constatat 74 de componenți, din care 34 au fost identificați și determinați cantitativ (tab.1). Totalul acestora constituie 71.64%, cu următorii componenți principali: cariofilen (12.155%), α – pinen (8.574%), cariofilen oxid (12.119%).

Cercetările anterioare au demonstrat că conținutul de ulei esențial din partea aeriană a plantelor de *H. perforatum* colectate în Turcia, Italia, Grecia, Serbia și Franța variază considerabil [5,11,14,16,18]. Cantitatea și componența uleiului volatil din speciile genului *Hypericum* variază nu numai în funcție de faza fenologică de dezvoltare, dar și în funcție de arealul răspândirii. Spre exemplu, randamentul uleiului esențial din partea aeriană a speciei *H. perforatum* L. din diferite localități ale sud-estului Franței este 0.03 - 0.12% [18], din flora Tadjikistanului – 0.1-0.4% [19].

Tabelul 1. Analiza calitativ i cantitativ (%) a uleiului esențial din specii de *Hypericum* L.

Timp de reten ie	Componen i	<i>H. perforatum</i>	<i>H. elegans</i>	<i>H. tetrapterum</i>	<i>H. hirsutum</i>
1	2	3	4	5	6
3.941	nonan	0.782	0.574	1.036	2.743
4.496	α -felandren	0.81			
4.672	α -pinen	8.574	4.779	0.232	
5.305	3-metilnonan	1.055			
5.440	sabinen	0.443			
5.541	β -pinen	3.216	0.378		
5.757	β -mircen	0.589			
6.573	p-cimen	1.218			
6.676	Limonen	0.389			
7.097	2-metildecen	1.576	0.837		

Tabelul 1. (Continuare)

7.744	cis-linalool oxid			0.193	
8.387	undecan	2.096	10.262	3.157	4.279
10.497	terpinen-4-ol	0.675			
10.839	α -terpineol	0.319			
11.192	decanal			1.213	
12.718	acid nonanoic	0.722			
12.981	1-decanol	0.19		1.207	
13.536	2-undecanon			0.282	
13.682	tridecan	0.513			
15.116	α -longipinen	0.316			
15.137	1-undecanol			1.574	
15.525	α - longipinen			8.489	
15.755	copaen		1.21	9.271	
16.499	dodecanal			0.412	
16.753	β -cedren	4.155			
16.989	β -cariofilen	12.175	1.294	1.351	
17.635	(+)-longiciclen	0.407		2.912	
17.727	α -cariofilen	2.09		0.820	5.086
17.881	hexadecan	0.242	0.642		
18.129	1-dodecanol	2.735	1.472		
18.488	aromadendren	2.158	13.99	0.718	
18.808	γ -gurjunen		14.532		
19.396	δ -cadinen	0.651	3.047	6.423	1.492
20.337	nerolidol	1.378	0.840		
20.931	cariofilen oxid	12.119		1.676	10.435
23.051	α -bisabolol	0.428		1.036	
24.786	benzoat de benzil	0.137			
27.059	1-tetradecanol	0.569	1.072		
29.876	tunbergol	1.762	3.101	0.433	2.409
30.186	heneicosan	0.266	0.528		0.762
30.325	fitol	0.842	2.593	4.501	6.056
32.213	tetracosan		0.436	0.318	0.702
Componen i identifica i, %		71.277	61.587	47.224	33.964
Num r componen i identifica i		33	18	21	9

Componenții majori ai uleiului volatil separat din *H. perforatum*, colectat în sud-estul Franței sunt: cariofilen oxid, β -cariofilen, spathulenol, β -funebren, c-muurolen, (E)- β -farnesen, și cariofilladienol [18]. Randamentul uleiului volatil obținut din specia

H. perforatum din flora Tadjikistanului este de 0.1-0.4%, cu următorii componenți majori: germacren D (13,7%), α -pinen (5.1%), cariofilen, n-dodecanol (4,5%) [19], cariofilen oxid (4,2%), biciclogermacren (3,8%) și spatulenol (3,4%). Aceeași specie din flora Italiei Centrale conține 0.07% ulei esențial, cu componenții majori: (E)-cariofilen (21.6-23.0%) și germacren D (19.5-20.8%) [11], iar în partea aeriană a plantei *H. perforatum* L. colectat în diferite faze de dezvoltare din sud-estului Franței, conținutul uleiului volatil variază de la 0.070% până la 0.058%, fiind maximal în faza de înflorire în masă – 0.092% [17].

Cercetările întreprinse de noi au demonstrat că în uleiul esențial de *H. elegans* sunt prezenți 49 componenți. Din aceștia au fost identificați 18, componenții majori fiind: g-gurjunen (14.532%), aromadendren (13.99%), undecan (10.262%), α -pinen (4.779%) (tab.1). *H. elegans*, colectat din flora spontană a sud-estului Serbiei în faza de înflorire, conține 0.08% ulei esențial cu componenții majori: undecan (31.9%), α -pinen (16.7%) și nonan (6.1%) [15].

În uleiul esențial de *H. tetrapterum* noi am constatat 56 componenți. Din aceștia au fost identificați 22, componenți majori fiind următorii: copaen (9.271%), α -longipinen (8.489%), δ -cadinen (6.423%) (tab.1). Aceiași componenți majori au fost identificați în uleiul esențial de *H. tetrapterum* din Grecia (α -copaen, 11.3%; α -longipinen, 9.7%), dar și cariofilen oxid, 8.9%, n-undecan, 7.4%. *H. tetrapterum* ce provine din Italia, de asemenea, are aceiași 2 componenți majori: α -copaen (12.7%) și α -longipinen (8.1%) [2,14]. Conținutul uleiului volatil la *H. tetrapterum* din Grecia este de 0.2%, iar din Centrul Italiei de 0.1%. Conținutul în ulei esențial al speciei *H. tetrapterum* din Grecia este mai ridicat (0.2%), iar cel din Centrul Italiei (0.1%) – mai jos de cât cel din Moldova.

Specia *H. hirsutum* în uleiul volatil conține 24 componenți, din care au fost identificați 9, ceea ce constituie 33,964% (tab.1). Componenții majori atestați în uleiul esențial al acestei specii, colectate în Moldova sunt: cariofilen oxid (10.435%), phytol (6.056%) și α -cariofilen (5.086%). În flora spontană a Franței această specie sintetizează și acumulează în uleiul esențial alți componenți majori, cum ar fi n-nonan (52%) și n-undecan 30%, iar plantele colectate în Serbia – 3 componenți majori n-undecan (32.2%), patchoulen (11.8%) și cariofilen oxid (9.3%) [10], concentrația ultimului component fiind similară cu concentrația atestată de noi la *H. hirsutum* din Moldova. În mostrele din Italia Centrală componenții majori a acestei specii sunt (E,E)- α -farnesen (7.0–13.8%) și E- β -farnesen (7.2–9.4%) [11], neatestate în uleiul esențial de *H. hirsutum* din Moldova.

Compararea rezultatelor analizei cantitative și calitative a uleiului esențial separat din speciile *H. perforatum*, *H. elegans*, *H. tetrapterum*, *H. hirsutum* din flora spontană a Republicii Moldova ne permite să concludem că toate aceste specii conțin nonan, undecan, δ -cadinen, thunbergol și phytol, dar în concentrații diferite. Se deosebesc speciile și după componenții majori ai uleiului esențial.

Astfel, în uleiul esențial de *H. perforatum* componenții majori, cum s-a pomenit mai sus, sunt β -cariofilen, cariofilen oxid și α -pinen. Concentrații însemnate de cariofilen oxid (10.435%) se mai conțin numai în uleiul speciei *H. hirsutum*, celelalte specii se deosebesc de *H. perforatum* atât după componenții majori, cât și după numărul și concentrația componenților minori.

Compuși comuni pentru uleiul esențial de *H. perforatum*, colectate în faza de înflorire din Moldova, Tadjikistan, Uzbekistan, Turcia, Serbia, Franța, Grecia sunt: cariofilen oxid, β - cariofilen, α -pinen [1,5,14,16,18,19].

Concluzii

1. Pentru prima dată s-a determinat conținutul și componența chimică cantitativă a uleiului esențial separat din speciile *H. perforatum*, *H. elegans*, *H. hirsutum* și *H. tetrapterum* din flora spontană a Republicii Moldova.

2. Specia *H. perforatum* se caracterizează prin conținut maxim de ulei esențial - 0.26 % (s.u.). În speciile *H. elegans* și *H. tetrapterum* se conține 0.15% (s.u.), 0.13% (s.u.) ulei esențial, respectiv, iar *H. hirsutum* se deosebește prin conținut minim de ulei esențial - 0.094% (s.u.)

3. Componenții majori în uleiul esențial de sunătoare sunt diferiți la diferite specii: la *H. perforatum* - β -cariofilen (12.175%), cariofilen oxid (12.119%) și α -pinen (8.574%); la *H. elegans* - g-gurjunen (13.99%), aromadendren (13.99%), undecan (10.262%); la *H. tetrapterum* - dodecanal (9.271%), α -longipinen (8.489%) și la *H. hirsutum* - cariofilen oxid (10.435%), phytol (6.056%).

4. Componenții comuni ai uleiului volatil de *H. perforatum*, *H. elegans*, *H. tetrapterum* și *H. hirsutum* sunt: nonan, undecan, cadinen, thunbergol și fitol, concentrația acestora fiind diferită.

Bibliografie

1. Baser K.H.C., Ozek T., Nuriddinov H.R., Demirci A.B. Essential oils of two *Hypericum* species from Uzbekistan. // Chemistry of Natural Compounds. 2002, 38, p.54-57.

2. Bertoli Alessandra, Cuneyt Cirak, Jaime A. Teixeira da Silva. *Hypericum* Species as Sources of Valuable Essential Oils. // Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology (Special Issue1): 2011, 5, p.29 - 47.

3. iccarelli Daniela, Andreucci Andrea, Pagni Anna Maria. Translucent Glands and Secretory Canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): Morphological, and Histochemical Studies During. // The Course of Ontogenesis. Annals of Botany. 2001, 88, p. 637-644.

4. Dall'Agnol R., Ferraz A., Bernardi A.P., Albring D., Nör C., Sarmiento L., Lamb L., Hass M., von Poser G., Schapoval E.E.S. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. // Phytomedicine 2003,10: 511-516

5. European Pharmacopoeia ed. VI, vol. 2, Council of Europe Strasbourg, 2008, p.2958-2959.

6. Erken S., Malyer H., Demirci F., Demirci B., Baser K.H.C. Chemical investigations on some *Hypericum* species growing in Turkey. // Chemistry of Natural Compounds. 2001, 37, 5, p. 434-438.

7. Farmacopeea Română. Ediția a X-a. Medicală Press, Bucharest, 1993, pp. 483-484.

8. Gîtea Daniela, ipo Monica, T ma Mircea, Pa ca Bianca. Secretory structures at Species of *Hypericum* Genera from Bihor Country, Romania. // Note I. Vegetative organs Farmacia, 2011, Vol. 59, 3, p. 424-430.

9. Gudži B., or evi S., Pali R., Stojanovi G. Essential oils of *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum perforatum* L. // Flavour and Fragrance Journal 2001, 16(3), 201-203.

10. Gudžic B., Šmelcerovi A., or evi S., Mimica-Duki N. and Risti M. Essential oil composition of *Hypericum hirsutum* L. // Flavour and Fragrance Journal 2007, 22(1), p.42-43.

11. Maggi F., Cecchini C., Cresci A., Coman M.M., Tirillini B., Sagratini G., Papa F., Vittori S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from several

Hypericum taxa (Guttiferae) growing in central Italy. // (Appennino Umbro-Marchigiano) Chemistry & Biodiversity;7: 2010, 447–466.

12. *Motavalizadehkakhky Alireza*. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils of four *Hypericum* from Khorasan, Iran. // Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(12): 2012, 2478-2487.

13. *Negru Andrei*. Determinator de plante din flora Republicii Moldova. // Chişinău, 2007, p.83.

14. *Pavlovi M., O. Tzakou, P. V. Petrakis and M. Couladis*. The essential oil of *Hypericum perforatum* L., *Hypericum tetrapterum* Fries and *Hypericum olympicum* L. growing in Greece. // Flavour and Fragrance Journal 21(1): 2006, 84-87.

15. *Radulovi N., Đorđevi A., & Pali R*. The Intraspecific Chemotaxonomic Placement of *Hypericum elegans* Stephanex Willd. // Inferred from the Essential-Oil Chemical Composition. 7 (4), 2010, 943-952.

16. *Saroglou V., Marin P. D., Rancic A., Veljic M., Skaltsa H*. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia. // Biochemical Systematics and Ecology 35(3): 2007,146-152.

17. *Schwob Isabelle, Jean-Marie Bessiere, Veronique Masotti, Josette Viano*. Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. // Biochemical Systematic and Ecology 32(8): 2004, 735-745.

18. *Schwob Isabelle, Jean-Marie Bessière, Josette Viano*. Composition of the essential oils of *Hypericum perforatum* L. from southeastern France. // C. R. Biologies 325: 2002, 781–785.

19. *Sharopov F., Gulmurodov I., Setzer W*. Essential oil composition of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum scabrum* L. growing wild in Tajikistan. // J. Chem. Pharm. Res., 2(6): 2010, 284-290.

20. *Silva Bruno A., Ferreres Federico, Malva Joao O., Dias Alberto C. P*. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* L. alcoholic extracts. // Food Chemistry, 2005, 90, p. 157-167.

21. *Tomir Mircea, Dragulescu C., Ilie Oniga, Florina Glia*. Comparative phytochemical research on some species of *Hypericum* and populations of *H. perforatum* L. (Hypericaceae) in Romania. // Acta oecologica. 2001, vol.VIII, 1-2, p.25-31.

22. *Tiziana Mennini, Marco Gobbi*. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. // Life Sciences 75, 2004, p. 1021-1027.

23. Состав и свойства пектиновых полисахаридов зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L. // Химия растительного сырья . 2011. №1, с. 33-38.

24. Исследование по обоснованию новых подходов к стандартизации сырья и препаратов Зверобоя продырявленного. // Химия растительного сырья . 2008. №1, с. 81-86.