

CZU: 615.322:582.949.26

STUDII FARMACEUTICE A EXTRACTELOR DE LEVĂNȚICĂ PHARMACEUTICAL STUDIES OF LAVENDER EXTRACTS

Adina ORGAN^{1*}, Veaceslav KULCIȚKI², Nicon UNGUR², Natalia BÎRCĂ²,
Tamara COTELEA¹

¹Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova; ²Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Autor corespondent*: adina.medexpert@gmail.com

Rezumat. Introducere. Utilizarea eficientă a deșeurilor provenite din plante cultivate industrial reprezintă o oportunitate convenabilă pentru producerea de noi produse farmaceutice și suplimente alimentare. În acest context, deșeurile de lavandă pot fi considerate o sursă valoroasă de compuși polifenolici și triterpenici. **Materia și metode.** Am realizat determinarea calitativă și cantitativă a principalelor substanțe din extractele de deșeurii de lavandă folosind metode clasice – determinarea polifenolilor totali cu reactivul Folin-Ciocalteu, determinarea cantitativă a flavonoidelor. De asemenea, au fost efectuate teste biologice și studii preclinice de citotoxicitate și vindecare a rănilor la șoareci. **Rezultate.** Au fost obținute următoarele rezultate. la determinarea polifenolilor totali, fracțiunea cu codul LA6 a arătat cel mai mare conținut – 495,59 mg EGA/g extract; în determinarea cantitativă a flavonoidelor – 343,01 mg echivalent de catechină/g extract. În studiile de vindecare a leziunilor cu extracte de deșeurii de lavandă, zona afectată a arătat o reepitelializare parțială. **Concluzii.** Pentru unele extracte obținute din deșeurii de lavandă, am găsit o concentrație mare de polifenoli și flavonoide, ceea ce implică și o activitate biologică ridicată în vindecarea rănilor.

Cuvinte cheie: deșeurii de lavandă, polifenoli, flavonoide, vindecarea rănilor.

Summary. Introduction. The efficient use of industrially grown plant wastes is a convenient opportunity for the production of new pharmaceutical products and dietary supplements. In this context, lavender wastes can be considered a valuable source of polyphenolic and triterpene compounds. **Material and methods.** We performed the qualitative and quantitative determination of the main substances in lavender waste extracts using classical methods – determination of total polyphenols with the Folin-Ciocalteu reagent, quantitative determination of flavonoids. Biological tests and preclinical studies of cytotoxicity and wound healing in mice were also performed. **Results.** The following results were obtained: in the determination of total polyphenols, the fraction with the code LA6 presented the highest content – 495.59 mg EGA/g extract; in the quantitative determination of flavonoids – 343.01 mg catechin equivalent/g extract. In wound healing studies with lavender waste extract, the affected area showed partial re-epithelialization. **Conclusions.** For some extracts obtained from lavender waste, we found a high concentration of polyphenols and flavonoids, which is also implicated in high biological activity in wound healing.

Key words: lavender waste, polyphenols, flavonoids, wound healing.

INTRODUCERE

Din cele mai vechi timpuri, oamenii căutau medicamente în natură prin metodă empirică. Foloseau plante ca medicamente instinctiv din cauza lipsei de informații despre plante și proprietățile lor în anumite boli sau condiții. Doar utilizând o plantă specifică și observând cum se dezvoltă boala și starea pacientului, fie se agrava, fie se îmbunătățeau, oamenii reușeau să descopere tratamente adecvate. Astfel, au fost descoperite plante

medicinale cu proprietăți terapeutice care pot fi folosite în tratamentul infecțiilor urinare, cum ar fi merișorul și coada-ursului, sau melisa, usturoiul și arborele de ceai utilizate în tratamentul rănilor infectate.

Cunoașterea despre tratamentele bolilor a fost colectată și documentată. Astăzi folosim aceste informații nu doar în medicină, ci și în viața de zi cu zi – multe plante menționate în Vede nu doar ajută la tratarea bolilor, ci influențează digestia atunci când sunt folosite în gătit și adaugă un gust special mâncărilor. Multe plante medicinale care conțin uleiuri esențiale sunt cele mai bune calmante ale stresului și pot fi folosite ca adjuvante în tratamentele clasice pentru depresie și anxietate.

Genul „Lavandula”, care face parte din familia Lamiaceae și include numeroase specii și hibrizi, este una dintre cele mai cunoscute plante din lume pentru uleiurile esențiale. „*Lavandula angustifolia*” Mill. (sin. *L. vera* sau *L. officinalis*) este un arbust peren și cu frunze veșnic verzi, iar printre plantele aromatice, este specia cea mai răspândită cultivată pe țărmurile Mării Mediterane.

Lavanda a fost folosită pe scară largă ca plantă medicinală de secole în medicina tradițională. În special, uleiul esențial de lavandă (UEL) este utilizat frecvent în produse farmaceutice, preparate fitoterapeutice, precum și în alimentație și cosmetice [2]. Una dintre principalele utilizări ale UEL este în aromaterapia prin inhalare datorită proprietăților sale versatile: sedative, antiinflamatorii, antidepresive, antiseptice, analgezice și antispastice. În industria alimentară, UEL este utilizat în principal ca antibacterian natural pentru conservarea alimentelor și prelungirea duratei lor de valabilitate, și ca agent de aromatizare în diverse produse alimentare (de exemplu, băuturi, dulciuri, bomboane și gumă de mestecat).

După hidrodistilarea uleiului volatil, restul deșeurilor de lavandă (*Lavandula angustifolia* Mill.) reprezintă o sursă bogată de acizi triterpenici biologic activi – acizi ursolici și oleanolici. Interesul pentru acești compuși este explicat prin multiplele lor acțiuni farmacologice: antiulcer, antitumorale, hepatoprotective, antiinflamatorii, antibacteriene, antifungice, antivirale, diuretice, care, împreună cu toxicitatea lor scăzută, le conferă proprietăți excepționale [3].

În acest context, **scopul lucrării** de față este de a determina proprietățile farmaceutice ale extractelor de deșeuri de lavandă prin investigarea compoziției chimice, a capacității antioxidante și a efectelor de vindecare a rănilor.

MATERIAL ȘI METODE

1. Prepararea materialului vegetal

Materialul vegetal de lavandă (*Lavandula angustifolia* Mill.) a fost colectat în perioada de recoltare (iulie 2019) la locația facilității de producție industrială a companiei de uleiuri esențiale Cobusca Nouă, Republica Moldova, imediat după distilarea cu aburi și separarea uleiului esențial. A fost uscat într-un spațiu ventilat continuu, la temperatură ambientă, până la greutatea constantă. Materialul uscat a fost păstrat în saci din hârtie Kraft în locuri bine ventilate la temperatura camerei. Separarea florilor de tulpini a fost realizată manual. Tulpinile au fost tăiate cu foarfeca la o lungime de 10-20 mm. Florile au fost utilizate în formă intactă.

2. Extractie asistată cu ultrasunete

Extractia tulpinilor și florilor a fost realizată separat. Solventul inițial de extragere a fost etanolul acvatic 96%. Ca solvent alternativ a fost aplicat etanolul acvatic 70%. Materialul vegetal (100 g) a fost plasat într-un balon Erlenmayer, solventul de extragere (800 ml) a fost adăugat, iar balonul a fost acoperit ermetic cu folie de aluminiu pentru a preveni evaporarea solventului și a fost introdus într-un baie cu ultrasunete pentru iradiere la 60°C. A fost folosit un baie cu ultrasunete Raypa UC-150 (Terrassa-Barcelona, Spania) cu putere fixă de 400 W și frecvență de lucru de 35 KHz, setat pe modul de undă completă. Extractia a inclus faze de macerare (30 min) și iradiere (15 min) repetate de trei ori la 60°C. Extractele fierbinți au fost decantate din materialul vegetal și filtrate printr-un filtru de hârtie Whatman nr. 1. Solventul a fost distilat pe un evaporator rotativ

Heidolph Hei-VAP Value G3 (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Germania). Extractele brute obținute au fost uscate în vid (2 Torr) timp de 60 min la temperatura camerei și păstrate la -20°C într-o atmosferă de azot.

3. Determinarea conținutului total de polifenoli

Conținutul total de polifenoli din extracte a fost determinat prin utilizarea testului Folin-Ciocalteu. Extractele uscate au fost dizolvate în soluție de dimetilsulfoxid. 0,04 ml din soluția fiecărui extract a fost adăugat la un amestec constând din 3,16 ml apă ultrapură și 0,2 ml reactiv Folin-Ciocalteu (Supelco). După 5 minute, s-a adăugat 0,6 ml soluție de carbonat de sodiu 20%. După agitare viguroasă, soluțiile au fost păstrate timp de două ore în întuneric, la temperatura camerei; absorbția lor a fost măsurată la lungimea de undă $\lambda=765$ nm, față de un eșantion martor, pregătit în același mod, dar fără extract. Rezultatele au fost exprimate în mg echivalent de acid galic pe g de extract.

4. Determinarea cantitativă a flavonoidelor

Fiecare extract analizat (0,25 ml) a fost amestecat cu 1,25 ml apă ultrapură și 0,075 ml soluție de nitrit de sodiu 5%. După 6 minute, s-a adăugat 0,15 ml soluție de clorură de aluminiu 10%. Amestecul a fost agitat viguros și lăsat să stea 5 minute; apoi s-au adăugat 0,5 ml soluție de hidroxid de sodiu 1 M și 0,275 ml apă ultrapură. Absorbția amestecului de reacție a fost determinată imediat la lungimea de undă $\lambda=510$ nm. Rezultatele au fost exprimate în mg echivalent de (+)-catechină (mg (+) catechină hidratată/g extract).

6. Leziuni termice

A fost preparat un gel prin dizolvarea carmelozei de sodiu într-o cantitate mică de apă până când gelul s-a format. O cantitate necesară de extract a fost adăugată la masa de gel obținută. Gelul a fost aplicat zilnic pe leziunile de la șoareci. Animalele au fost împărțite în 6 grupe de câte 3 indivizi fiecare (3 femele și 3 masculi). Gelul din fracțiile de extract de LA a fost administrat zilnic pe leziuni la șobolani albi fără pedigree. Animalele au fost supuse observărilor permanente timp de 24 de ore, cu înregistrarea comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei. Mai apoi animalele au fost supuse observărilor zilnice pe parcursul a 7 zile prin monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, frecvenței și ritmicității respirației, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile), timpul dezvoltării semnelor de regenerare și decesului.

REZULTATE ȘI CONCLUZII

Deșeurile uscate de lavandă colectate de la planta de producție a uleiului esențial s-au separat ușor în flori și tulpini. Pe baza lucrărilor anterioare privind izolarea UA din acest material brut, s-a decis obținerea de extracte separate din ambele părți ale plantei. În perspectiva unei producții la scară largă, separarea florilor uscate poate fi adaptată la o procedură continuă de pretratare. Florile separate au dimensiuni adecvate pentru extracția directă, fără a fi necesară măcinarea.

În ceea ce privește tulpinile separate, măcinarea lor preliminară reprezintă un pas obligatoriu de pretratare, care duce la o dimensiune mai mică a particulelor și o ambalare mai bună a materialului brut în vasul de extracție, oferind totodată suficient spațiu pentru un transfer de masă eficient în timpul extracției statice. Gradul de măcinare, însă, trebuie optimizat, deoarece o măcinare excesivă într-un praf împiedică transferul de masă, așa cum s-a menționat anterior. În cazul nostru, dimensiunile particulelor obținute în intervalul 10–20 mm, realizate prin tăiere manuală, s-au dovedit a fi optime.

Extracția asistată de ultrasunete a fost realizată conform unui schemă combinată, care include iradiere secvențială de 15 minute la încălzire moderată (60°C), urmată de macerare de 30 de minute pentru a permite extracția la aceeași temperatură. Astfel de scheme de ultrasonicație intermitentă au fost raportate și în alte lucrări și oferă avantajul de a proteja generatorul de ultrasunete de supraîncălzire. Temperatura de extracție a fost setată la 60°C , adică mai mică decât punctele de fierbere ale solvenților selectați (77°C pentru acetat de etil și 78°C pentru etanol). Efectuarea extracției la temperaturi mai

blânde este încă posibilă, dar în detrimentul unui timp mai lung sau al unui randament mai mic al extractelor obținute.

Extractele de deșeuri de lavandă au fost evaluate ca o sursă potențială de antioxidanți. La determinarea polifenolilor totali, fracțiunea cu codul LA6 a arătat cel mai mare conținut – 495,59 mg EGA/g extract; în determinarea cantitativă a flavonoidelor – 343,01 mg echivalent de catechină/g extract.

Vindecarea rănilor este un proces foarte ordonat și bine coordonat, care implică inflamația, formarea țesutului de granulație, fibrogenza, neovascularizația, contractia plăgii și resurfacing-ul defectului plăgii cu epiteliu.

Studierea secțiunilor histologice în colorația cu hematoxilină și eozină (HE) a evidențiat regenerare parțială atât la nivel epitelial, cât și dermal. Au fost observate marginile defectului. În zona de arsură se pot observa țesuturi necrotice (crusta), un proces inflamator de intensitate scăzută, arii cu mici cheaguri de sânge. Membrana bazală a epidermului în toate cele trei specimene a fost absentă sau a fost discontinuă pe arii extinse. În zona dermului profund, nemijlocit învecinat cu zona de injurie, se vizualizează o reorganizare a fasciculelor de fibre de colagen. În dermul superficial s-a observat un grad crescut de țesut de granulație (fibroplazie).

Potențialul de vindecare a plăgilor al extractelor din deșeuri de levănțică este datorat prezenței compușilor activi cum ar fi acizii ursolic, oleanolic și pomolic.

BIBLIOGRAFIE.

1. Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacogn Rev.* 2012 Jan;6(11):1-5. doi:10.4103/0973-7847.95849. PMID: 22654398; PMCID: PMC3358962.
2. Slavov, A., Karneva, K., Vasileva, I., Denev, P., Denkova, R., Shikov, V., Manolova, M., Lazarova, Y., & Ivanova, V. (2018). Valorization of lavender waste – obtaining and characteristics of polyphenol rich extracts. *Food Science And Applied Biotechnology*, 1(1), 11-18. doi:10.30721/fsab2018.v1.i1.5
3. Ivanov, I., Petkova, N., Tumbarski, Y., Vrancheva, R., & Stoyanova, M. (2018). Lavender waste-promising source of triterpenoids and polyphenols with antioxidant and antimicrobial activity. *Ind. Technol*, 5, 26-32.
4. Ghosh, P.K.; Gaba, A. Phyto-extracts in wound healing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2013, 16(5), pp.760-820. DOI: <https://doi.org/10.18433/I3831V>
5. Heral, B., Stierlin, E., Fernandez, X., Michel, T., 2021. Phytochemicals from the genus *Lavandula*; a review. *Phytochemistry Rev.* 20 (4), 751-771
6. Simone Tasca Cargnin, Simone Baggio Gnoatto, Ursolic acid from apple pomace and traditional plants: A valuable triterpenoid with functional properties, *Food Chemistry*, 220, 2017, 477-489, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.029>
7. Elsbaey, M., Mwakalukwa, R., Shimizu, K., & Miyamoto, T. (2019). Pentacyclic triterpenes from *Lavandula coronopifolia*: structure related inhibitory activity on α -glucosidase. *Natural Product Research*, 35(9), 1436–1444. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1655017>
8. Dimas Dimitris, Tomou Ekaterina-Michaela, Karamani Christina, Sfniadakis Ioannis, Siakavella K. Ioanna, Liakopoulou Aggeliki, Hatziantoniou Sophia, Rallis Michael, Skaltsa Helen, *Melissa officinalis ssp. altissima* extracts: A therapeutic approach targeting psoriasis in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 246, 2020, <http://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112208>.
9. Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., Basu, C. (2019). Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. In: Joshee, N., Dhekney, S., Parajuli, P. (eds) *Medicinal Plants*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5_15

Author's ORCID

Adina Organ	https://orcid.org/0000-0001-8904-7793
Veaceslav Kulcički	https://orcid.org/0000-0002-9363-1615
Nicon Ungur	https://orcid.org/0000-0002-7457-4520
Natalia Bîrcă	https://orcid.org/0009-0006-8522-5154
Tamara Cotelea	https://orcid.org/0009-0008-6759-8082