

DINAMICA ACUMULĂRII PRINCIPIILOR ACTIVE ÎN *SOLIDAGO CANADENSIS L.*

DYNAMIC OF ACCUMULATION OF ACTIVE PRINCIPLES IN *SOLIDAGO CANADENSIS L.*

Maria Cojocaru-Toma, Mihaela Nartea

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

Rezumat. Splinuța (*Solidago canadensis L.*) este utilizată de secole, în medicina populară a multor țări ca diuretic, antiseptic, expectorant, astringent și antiinflamator. În scopul determinării principiilor active, care datorează acțiunea farmacologică, s-au colectat produsele vegetale: *Solidaginis flores et folia*, aa. 2013-2014, din cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Principiile active (flavonoidele și taninurile) au fost identificate prin reacții de culoare și cromatografie pe strat subțire, iar pentru dozarea lor s-au utilizat metode farmacopeice: titrimetria pentru taninuri și spectrofotometria pentru flavonoide. Rezultatele denotă că florile de splinuță sunt mai valoroase în principii active, cu o creștere a taninurilor de la (7,3% la 8,6%) și cu o diminuare în conținut de flavonoide de la (4,1% la 3,9%), iar acumularea lor este influențată și de factorii climaterici, inclusiv temperatură și umiditate.

Cuvinte cheie: plante medicinale, *Solidago canadensis L.*, taninuri, flavonoide, identificare, dozare.

Abstract. Goldenrod (*Solidago canadensis L.*) is used for centuries in folk medicine in many countries, as a diuretic, antiseptic, expectorant, astringent and antiinflammatory. In order to determine the active principles, that due to the pharmacological activity, were harvested vegetal products: *Solidaginis flores et folia*, two years 2013-2014, from the culture of Scientific Center for Cultivation of Medicinal Plants of State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”. The active principles (flavonoids and tannins) have been identified by color reactions and thin-layer chromatography, but in the dosage of the active principles were used pharmacopoeia methods: titrimetry for the tannins and spectrophotometry for flavonoids. The results denote that goldenrod flowers are more valuable in active ingredients, with an increase of concentration of the tannins from (7.3% to 8.6 %) and a decrease in flavonoids content from (4.1 % to 3.9 %), and their accumulation is influenced by climatic factors, including temperature and humidity.

Keywords: medicinal plants, *Solidago canadensis L.* tannins, flavonoids, identification, assay.

Introducere

Utilizarea de secole a plantelor medicinale în tratarea unor maladii a devenit de mult o tradiție, care se bazează de fapt, pe proprietățile terapeutice ale acestora. Speciile genului *Solidago* sunt întâlnite în Europa de Est, Caucaz, Siberia de Est și Vest, Orientul Îndepărtat și Asia, cca 12. Pe teritoriul României sunt întâlnite și studiate trei specii: *S. canadensis L.*, *S. gigantea Ait.*, *S. virgaurea L.*, atunci când în Republica Moldova este cultivată doar specia *S. canadensis L.* [10,12].

Splinuța (*Solidago canadensis L.*) este utilizată prin proprietățile sale diuretice și antiseptice a căilor urinare. Tot mai multă atenție se acordă proprietăților antioxidante, antiinflamatoare și antitumorale, acțiuni relevate prin prezența principiilor active.

În compoziția chimică a speciei *Solidago canadensis L.* constatăm prezența :flavonoidelor (rutozidă, izoramnetină, narcisină, kaempferol, quercetol), acizi carboxilici aromatici (acidul cafeic), cumarine (scopoletină, umbeliferonă), saponine triterpene (heterozide ale acidului oleanolic, canadensisaponine, baiogeninsaponine). Din substanțe tanante, au fost identificate acidul galic, elagic, catechina și epicatechina. În componentele uleiului volatil, remarcăm: limonenul, α – pinen, β – mircen. Au mai fost identificate poliholozide și substanțe amare [7,11].

Acțiunea diuretică a speciei *Solidago virgaurea* a fost confirmată prin studii preclinice efectuate pe șobolani

de ambele genuri, unde fracția de flavonoide, în doză de 25 mg/kg, a crescut diureza la șobolani cu 88% după 24 ore de la administrare, observându-se scăderea excreției nocturne de sodiu și potasiu și creșterea excreției calciului din organism [9]. Activitatea antiinflamatoare a saponinelor din *S. virgaurea* a fost testată pe modelul edemului la șobolani, cu o reducere semnificativă de edemăție după administrarea intravenoasă 1,25-2,5 mg/kg complex de saponine triterpene. Diterpena din extractul apos a inflorescențelor de *S. virgaurea* a demonstrat activitate gastroprotectoare, atunci când saponinele triterpene au demonstrat o activitate antifungică împotriva speciilor din genul *Candida* mai mare decât amestecul total de saponine. În alte experimente s-a demonstrat activitatea antifungică a extractului alcoolic de *S. virgaurea* împotriva dermatofitelor: *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum* și *M. Canin*. Acțiunea antioxidantă a fost confirmată experimental prin utilizarea extractului alcoolic apos de splinuță ca o componentă a medicamentului *Phytodolor*, care inhibă formarea de specii reactive de oxigen [1,3, 8]. Totodată, remarcăm că prin evaluarea produselor medicamentoase, constatăm 35 medicamente cu conținut de principii active din speciile *Solidago* din țările europene și spațiul CSI, atunci când în Republica Moldova este înregistrat și prezent pe piața farmaceutică doar un singur produs: *Solidagoren N*, fapt ce denotă o valorificare insuficientă a speciilor genului *Solidago*.

Materiale și metode

Produsele vegetale: *Solidaginis flores et floia* au fost colectate 2 ani la rând (2012-2013), la începutul lunii august, din cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF "Nicolae Testemițanu". Momentul recoltării a coincis cu prima parte a înfloririi, când planta nu era trecută în etapa de fructificare. S-au recoltat de la baza tulpinii întreaga parte foliată, care s-a taiat, ulterior în fragmente lungi de circa 30 cm.

Ne-am propus ca scop identificarea și dozarea taninurilor și flavonoidelor, principii active responsabile de acțiunea antioxidantă, astringentă și antiinflamatoare în produsele vegetale: *Solidaginis folia et flores*.

Taninurile au fost identificate prin reacții specifice de indelicare, cu alaun de fier și cromatografie pe strat subțire în sistema: *n-butanol: acid acetic: apă* (4:1:5), cu utilizarea acidului galic în calitate de martor. Dozarea taninurilor a fost efectuată prin metoda titrimetrică, bazată de reacția de oxidare, cu utilizarea soluției de permanganat de potasiu 0,1. N, conform formulei de calcul [2, 4, 5].

Determinarea calitativă a flavonoidelor a fost efectuată prin reacții de identificare, proba chinodă și cromatografie pe strat subțire, utilizând 3 sisteme: *toluen: acid acetic: apă* (60:22:1,2); *acetat de etil: acid formic: acid acetic glacial: apă* (100:11:11:26) și: *butanol-n: acid acetic glacial: apă* (4:1:2), cu utilizarea rutinei și quercetinei, în calitate de martor, în sistemele menționate. Dozarea flavonoidelor s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică, ce se bazează pe reacția de culoare cu soluția de clorură de aluminiu, iar concentrația flavonoidelor s-a calculat cu ajutorul curbei etalon, pe baza absorbanțelor corespunzătoare a soluției de rutozidă [4, 6].

Rezultate și discuții

Splinuța (*Solidago canadensis L.*) este introdusă în cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF "Nicolae Testemițanu" din anul 2002. Produsul vegetal constituie: fragmente de tulpini erecte, de culoare verde, pubescente pe toată lungimea lor, fragmente de frunze alungit lanceolate, lung acuminate, acut serate, cu margini întregi pentru cele bazale, pubescente pe partea superioară și scurt pubescente pe partea inferioară; antodii numeroase, dispuse la partea superioară a ramurilor grupate într-un panicul piramidal; fragmente de flori galbene aurii, cu dimensiuni mai mari pentru cele marginale decât involucrele. La etapa uscării, s-au separat frunzele (*Solidaginis folia*) și florile (*Solidaginis flores*), în scopul analizei principiilor active atât în flori cât și frunze, obținând astfel, câte două mostre de produse vegetale din fiecare an.

Substanțele tanate sunt amestecuri de polifenoli diferiți ce au adesea o structură compusă, sunt foarte labili, deaceia izolarea și studierea componentelor individuale prezintă unele dificultăți. Substanțele tanate au fost identificate prin reacția cu alaun de fier cu amoniu. Precipitatul apărut de o culoare negru-albastru (alaun de

fier) denotă atât prezența taninurilor, cât și specificarea celor hidrolizabile în toate patru mostre. Prin cromatografie pe strat subțire, cu utilizarea sistemului: *n-butanol: acid acetic: apă* (4:1:5), în probele: *Solidaginis folia et Solidaginis flores*, constatăm prezența acidului galic cu $R_f = 0,35$ în toate 4 probe, cu spoturi de culoare brună, cât și alte trei spoturi, două dintre ele de culoare brună al treilea de culoare cenușie, cu $R_f = 0,30; 0,65; 0,76$, ce vorbește de prezența altor taninuri, cum ar fi: acidul elagic, catechinei și epicatechinei, conform referințelor științifice.

Tabelul 1.

Rezultatele cromatografiei pe strat subțire la identificarea taninurilor în *Solidaginis folia et flores*

Nr.	Probe, anul recoltării	Sistemul <i>n-butanol: acid acetic: apă</i> (4:1:5)
1.	<i>Solidaginis folia</i> , 2013	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
2.	<i>Solidaginis flores</i> , 2013	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
3.	<i>Solidaginis folia</i> , 2014	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
4.	<i>Solidaginis flores</i> , 2014	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
5	acidul galic (martor)	$R_f = 0,35$

În dozarea substanțelor tanante în produsele vegetale: *Solidaginis folia et flores* s-a utilizat metoda titrimetrică, bazată de reacția de oxidare cu utilizarea soluției de permanganat de potasiu 0,1. N, în prezența acidului indigosulfonic, până la culoarea galben aurie. Constatăm că, pentru anul 2013 conținutul de taninuri constituia 7,3% în flori și 7,06% în frunze, atunci când în anul 2014 taninurile se prezintă în cantități mai mari, respectiv 8,6% în flori și 8,3% în frunze. Astfel, totalul de substanțe tanante prevalează în flori, cu un conținut mai mare pentru anul 2014.

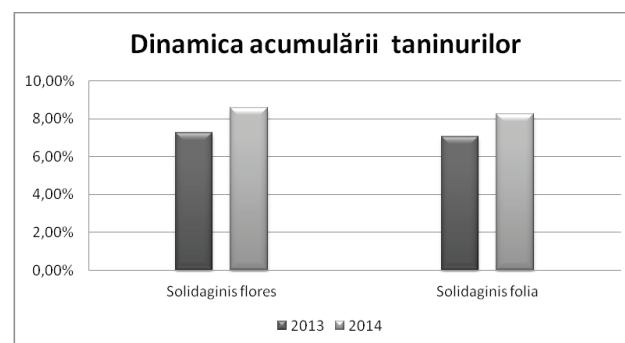


Fig. 1. Dinamica acumulării taninurilor în *Solidaginis flores et folia*

Flavonoidele prezintă un grup de pigmenți vegetali înrudiți, derivați ai fenil-benzo-gama pironei, iar extragerea lor se bazează pe solubilitate în apă sau alcool, la cald. Identificarea flavonoidelor în *Solidaginis folia et flores* a fost efectuată prin reacții de identificare, utilizând proba Chinodă. Reacția cianidinică pozitivă, a fost confirmată prin obținerea nuanțelor roșu portocaliu, pentru produsele vegetale luate în studiu. Pentru metoda cromatografiei pe strat subțire, s-au utilizat trei sisteme, dintre

care, sistema *toluen: acid acetic: apă* (60:22:1,2), nu ne-a oferit rezultate pozitive, spoturile fiind mai vizibile pentru sistemele: *acetat de etil: acid formic: acid acetic glacial: apă* (100:11:11:26) și *butanol-n: acid acetic glacial: apă* (4:1:2), cu identificarea rutozidei și quercetolului în toate partu probe, cu Rf 0,52 și 0,55 pentru rutozidă și Rf 0,87 și 0,97 respectiv, pentru quercetol, în sistemele menționate.

Tabelul 2

Rezultatele cromatografiei pe strat subțire la identificarea flavonoidelor în *Solidaginis folia et flores*

Nr.	Probe	Sistem I acetat de etil: acid formic: acid acetic glacial: apa (100:11:11:26)	Sistem II butanol-n: acid acetic glacial: apa (4:1:2)
1.	<i>Solidaginis folia</i> , 2013	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97
2.	<i>Solidaginis flores</i> , 2013	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97 -
3.	<i>Solidaginis folia</i> , 2014	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97
4.	<i>Solidaginis flores</i> , 2014	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97
	rutozidă (martor) spot brun	Rf = 0,52	Rf = 0,55
	quercitrol (martor), spot oranj	Rf = 0,87	Rf = 0,97

Dozarea flavonoidelor prin metoda spectrofotometrică este bazată pe reacția de culoare a lor în prezența soluției de clorură de aluminiu, iar concentrația în flavonoide a probelor de analizat se calculează cu ajutorul unei curbe etalon, stabilite în paralel și în aceleași condiții cu soluția probă luând în lucru: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 și 5,0 ml soluție de rutozidă 0,1 g/l în metanol [6]. Rezultatele denotă, că flavonoidele, în produsele vegetale studiate: *Solidaginis folia et Solidaginis flores* prevalează în flori. Astfel, pentru anul 2013, conținutul de flavonoide constituia 4,1 % în flori, și 3,92% în frunze, atunci când în anul 2014 flavonoidele se prezintă în cantități mai mici, respectiv 3,9% în flori și 3,6 % în frunze.

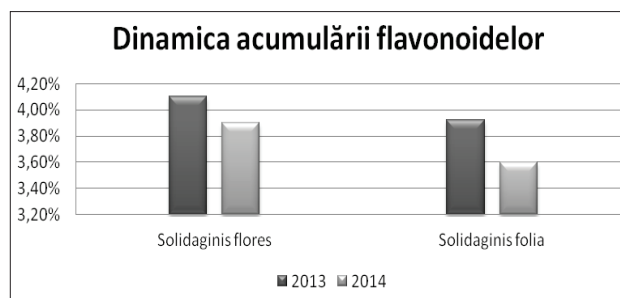


Fig. 2. Dinamica acumulării flavonoidelor în *Solidaginis flores et folia*

Identificarea și dozarea principiilor active în *Solidaginis folia et Solidaginis flores* dovedesc că acumularea flavonoidelor și taninurilor, nu a fost stabilă în perioada anilor de studiu (2013, 2014), fiind influențată de un șir de factori, inclusiv factori climacterici, cum ar fi temperatura și umiditatea.

Concluzii

1. Produsele vegetale *Solidaginis folia et flores* au fost colectate din cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu".

2. Florile de splinuță (*Solidaginis flores*) sunt mai valoroase în principii active, cu o creștere a taninurilor de la (7,3% la 8,6%) și cu o diminuare în conținut de flavonoide de la (4,1% la 3,9%)

3. Acumularea principiilor active: flavonoidelor și taninurilor, nu a fost stabilă în perioada aa. 2013 și 2014, fiind influențată de un șir de factori, cu prevalență pentru substanțe tanante și diminuare pentru flavonoide.

4. Din speciile genului *Solidago* sunt elaborate și înregistrate în țările europene și spațiul CSI cca 35 produse medicamentoase, atunci când în Republica Moldova este înregistrat doar un singur produs- *Solidagoren N*, 22, ce denotă o valorificare insuficientă a speciilor genului *Solidago*.

Bibliografie

- Bucciarelli A., *Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of Solidago chilensis Meyen (Asteraceae)*, Pharm Biol., vol. 48, 2010, 1025–1030.
- Ciulei I., Istudor V., Palade M., Albulescu D., Gord C. *Analiza farmacognostică și fitochimică a produselor vegetale*, vol.I, Ed. Tehnoplast Company, București, 1995, 22- 46.
- Demir H. *Antioxidant and antimicrobial activities of Solidago virgaurea extracts*, J. of Biotechnology, 2009, vol. 8; 274–279.
- European Pharmacopoeia. 2014. Vol. 1, 1456 p.
- European Pharmacopoeia. 2014. Vol. II, 3655 p.
- Onigă I., Benedec D., Hanganu D. *Analiza produselor naturale medicinale*. Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2004, 94-104.
- Tămaș M., Roșca M. *Cercetări asupra saponinelor triterpenice din specii indigene de Solidago*, Editura Farmacia, Cluj-Napoca, 1988, 167-171.
- Tămaș M. *Cercetări chemotaxodinamice la genul Solidago*, Contribuții botanice, Cluj-Napoca, 1986, 109-113.
- Voștinaru O., Mogoșan C., Tămaș M. *Cercetări farmacologice asupra acțiunii diuretice, saluretice și uricozurice a speciei Solidago virgaurea L.*, Clujul medical, 2004, 551-555.
- Weber E., *Latitudinal population differentiation in two species of Solidago (Asteraceae) introduced into Europe*, American J. of Botany, 1998; vol. 85, 1110–1121.
- Соколова П.Д., *Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Asteraceae (Compositae)*, Растительные ресурсы СССР: Наука, 1993, 352.
- Федотов В.В., *Виды рода золотарник (Solidago): значение для медицинской практики, перспективы изучения*, Медицина, Фармация, 2012, (16); 136–145.