

Produsul vegetal		Totalul de antociani, mg/100g
<i>C. cyanus</i> L.	inflorescențe purpurii	503
	inflorescențe albastre	92
	flori marginale albastre	318
	flori marginale purpurii	1734
<i>Vaccinium myrtillus</i>	fructe	281
<i>Aronia melanocarpa</i>	fructe	818

Comparând valorile obținute, constatăm că la inflorescențele și florile marginale albastre și purpurii de albăstriță există diferențe semnificative în ceea ce privește totalul de antociani. În inflorescențe de culoare albastră totalul antocianilor este de 92 mg/100g, în inflorescențe purpurii de cca 5 ori mai mult – 503 mg/100g. Cantitatea cea mai mare de antociani s-a obținut de la flori marginale purpurii – 1734 mg/100g, ceea ce depășește de 5 ori totalul din flori marginale de culoare albastră (318 mg/100g). Valorile obținute pentru fructe de aronie și afin sunt comparabile cu cele din literatura de specialitate [2].

Concluzii

Prin metoda cromatografiei pe strat subțire au fost identificate în inflorescențe de culoare purpurie și albastră următoarele substanțe: cianidina și pelargonidina.

Conținutul maximal al totalului de antociani s-a stabilit în flori marginale de culoare purpurie de *C. cyanus* L. (1734 mg/100g).

Bibliografie

1. Kornaga T., Zyzak D. Genetic and biochemical characterization of a „lost” unstable flower color phenotype in interspecific crosses of *Nicotiana*, South Carolina.
2. Tamaș M., Oniga I., Crisan G. *Recherches sur quelques produits avec des anthocyanes*, Proceedings of the XV-th edition of Balkan medical days Iași-România april 28-30 1999, Iași, 2000, p. 202-210.
3. Istudor V. Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie, București, 1996, p.110-115.
4. Nistoreanu A., Chiru T. *Centaurea cyanus* L. – sursă de diverși compuși fenolici, Analele USMF „Nicolae Testemițanu”, ediția VIII-a, vol.2 Chișinău, 2007, p.271-274.
5. *Растительные ресурсы СССР. Семейство Asteraceae*. Санкт-Петербург, 1993, с. 83-93.

UNELE ASPECTE STRUCTURALE ȘI FITOCHIMICE ALE SPECIEI *CYNARA SCOLYMUS* L. DIN COLECȚIA CENTRULUI DE CULTIVARE A PLANTELOR MEDICINALE A USMF „NICOLAE TESTEMIȚANU”

Tatiana Calalb, Elena Chițan

Catedra Farmacognozie și Botanică farmaceutică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Some Structural and Phytochemical Aspects of *Cynara scolymus* L. from the Centre of Cultivation of Medicinal Plants Collection of SMPPhU „Nicolae Testemițanu”

Globe artichoke plant *Cynara scolymus* L. (*Asteraceae*) was introduced in the collection of the Center of Cultivation of Medicinal Plants of SUMF “Nicolae Testemitanu” in 2003 year. The macroscopical description of the plant and microscopical investigation of the leaves have

been effectuated. The diagnostic microscopical characteristics of leaves have been determined. Lamina is dorso-ventral, amphystomatic with anomocytic stomata. Epidermis develops protective and glandular hairs. Mechanical tissues collenchyma and sclerenchyma are present in lamina and petiole.

The phenylpropanic derivatives of *C.scolymus* was examined. The caffeic and the chlorogenic acids were determined qualitatively by using of chromatographic method. The total of phenylpropanic compounds (0,241–0,348 mg/ml) was determined spectrophotometrically.

Rezumat

Anghinaria *C.scolymus* L. (*Asteraceae*) a fost introdusă în colecția Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu” în 2003. S-a efectuat descrierea morfologică a plantei și studiul microscopic al frunzelor de anghinarie. S-au determinat caracteristicile microscopice diagnostice: limb foliar de tip dorso-ventral, amfistomatic cu stoamte de tip anomocitic; epiderma dezvoltă peri tectori și glandular; țesutul mecanic de tip colenchimatic și sclerenchimatic prezent în lamină și pețiol.

Compușii fenilpropanici de tip C₆-C₃ din anghinarie au fost studiați. Prezența acizilor clorogenic și cafeic a fost determinată prin metoda cromatografică în strat subțire. Totalul compușilor fenilpropanici a fost determinat spectrofotometric (0,241–0,348 mg/ml).

Actualitatea lucrării

Anghinaria a fost cultivată încă la romani pentru frunzele utilizate în medicina tradițională și în consum în calitate de aliment. Frunzele erau antrenate în mod empiric în tratamentul hepatitelor, hiperglicemiei, obezității, deranjamentelor dispeptice etc. Numeroasele studii chimice și clinice, axate pe această plantă, au confirmat potențialul terapeutic al acestei plante. Constituenții chimici principali ai plantei sunt compușii fenolici ca: cinarina, acizii cafeic și clorogenic, luteolina, cinarozida și scolimozida (7). Constituenții respectivi au un spectru extrem de vast de acțiune: hepatoprotector și hepatostimulator (1,10), coleretic (1,3), contribuie la reducerea nivelului de colesterol și zahăr în sânge (2,6) și activității dispeptice (4), la dizolvarea și evacuarea calculilor din vezica biliară (2), au o acțiune excitantă asupra secreției biliare, sporesc potența de regenerare a celulele hepatice, ameliorează pofta de mâncare în cazul lipsei (2), posedă acțiune antifungică (8) și antimicrobiană (9), manifestă acțiune antioxidantă pronunțată (10). Grație acestor virtuți terapeutice și culinare incontestabile a frunzei de anghinarie, astăzi planta este cultivată în multe țări europene, iar în ultimii trei ani a fost introdusă în Colecția Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu”. Reieșind din faptul ca până în prezent *C. scolymus* n-a fost cultivată și studiată la nivel național, ne-am propus inițierea unui studiu morfo-anatomic și fitochimic asupra acestei valoroase plante medicinale.

Scopul și obiectivele lucrării

Studiul unor aspecte structurale și fitochimice ale anghinariei cu obiectivele:

- determinarea criteriilor morfo-anatomice diagnostice ale frunzelor de anghinarie;
- identificarea calitativă și determinarea totalului compușilor fenilpropanici în părți aeriene (frunze, calatidii, tulpini) a speciei *C. scolymus*.

Material și metode de cercetare

Sursă de material botanic pentru cercetare au servit frunzele, tulpinile, calatidiile plantelor de anghinarie recoltate în lunile iulie-august 2004-2007 din Colecția Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

S-au analizat preparate superficiale ale epidermelor și secțiuni transversale prin frunze, efectuate conform tehnicilor clasice. Acestea au fost supuse unui proces de clarificare, utilizând soluție de hipoclorit de potasiu. Colorarea secțiunilor a fost efectuată cu soluție de iod în caliu iod.

Aspectele morfologice ale frunzelor s-au evaluat prin următoarele criterii: tipul frunzei, dimensiunile, forma limbului, gradul de pătrundere a inciziilor, aspectul suprafețelor, culoarea, tipul nervațiunii.

Studiu histo-anatomic s-a realizat în baza criteriilor: conformația epidermei superioare, cât și inferioare (forma și dimensiunile celulelor; conturul pereților laterali; prezența, tipul și densitatea perilor; prezența, tipul și densitatea stomatelor); prezența elementelor mecanice; structura și tipul mezofilului; fasciculelor libero-lemnoase și localizarea lor.

Analiza compușilor fenilpropanici calitativ și cantitativ s-a efectuat conform metodicii (5). Reacția de identificare calitativă constă în tratarea extractului etanolic analizat cu 1 ml soluție de acid clorhidric 0,5 N, 1 ml reactiv Arnou și 1 ml soluție de hidroxid de sodiu 1 N.

Identificarea compușilor fenilpropanici s-a realizat prin metoda cromatografiei în strat subțire de silicagel. Ca soluții etalon au servit soluțiile metanolice de acid cafeic și clorogenic. Fază mobilă - sistemul de solvenți: acetat de etil – acid acetic – acid formic – apă (100:11:11:26). Cromatogramele s-au analizat în lumina vizibilă și UV.

Determinarea totalului compușilor fenilpropanici s-a efectuat spectrofotometric. Principiul metodei are la baza proprietatea fenolilor de a forma cu acidul azotos nitrozoderivați ce se izomerizează în oxime și datorită caracterului lor slab acid, se dizolvă în soluții alcaline, rezultând colorații roșii.

Extincția soluțiilor analizate se citește la lungimea de undă de 500 nm, față de un amestec preparat din: 0,5 ml soluție A, 1 ml acid clorhidric 0,5 N, 1 ml hidroxid de sodiu 1 N și apă până la 10 ml. Calcularea concentrației de compuși fenilpropanici se determină cu ajutorul unei curbe etalon, ca substanță de referință servind acidul cafeic.

Rezultate și discuții

Investigații morfo-anatomice

Morfologia. Anghinaria – reprezintă plante ierbacee, perene, robuste cu tulpinile ramificate suriu-tomentoase, înălțimea de 1,5 – 2,0 m. În primul an de vegetație planta dezvoltă frunze bazale, mari cu lungimea până la 80 cm, dispuse în rozetă. Frunzele au un pețiol puternic, cărnos de culoare argintie și limbul penat sectat sau fidat, cu 5-8 perechi de lacinii lanceolate, mucronate, pe partea inferioară alb-tomentoase și superioară glabre. Frunzele tulpinale, alterne și aproape sesile. Spre apexul tulpinii dimensiunile frunzelor se micșorează. Tulpina aeriană apare în cel de-al doilea an, este erectă, viguroasă, ramificată de la bază și dezvoltă un aspect tomentos. La vârful tulpinilor se dezvoltă florile unite în inflorescențe de tip calatidiu globulos (antodiu) cu diametru 6-8 cm. Bracteele involucrului sunt cărnoase la bază cu apex acut sau obtuz, nepungente, aranjate acropetal în jurul calatidiului. Pe discul receptaculului cărnos sunt dispuse florile tubulate, bisexuate, iar marginal florile sterile, ambele de culoare roșie-vioacee. Fructele reprezintă achene brune, ușor comprimate, însoțite de papus de culoare galbenă.

Microscopia frunzei. Pe secțiuni tangențial-superficiale epidermele atât superioară cât și inferioară sunt alcătuite din celule poligonale, împachetate compact. Celulele epidermei superioare cu pereți drepți ce trec în ușor sinuoși la cei anticlinali, pe când celulele celei inferioare se caracterizează prin pereți puternic sinuați. Stomatele de tip anomocitic pe ambele epiderme, dar mult mai frecvente pe cea inferioară. Două tipuri de peri se dezvoltă din abundență tot pe epiderma inferioară:

- peri tectori în formă de sfichi (sfârc) de bici cu bază uniserată din celule de dimensiuni mici și apex filamentos subțire și sinuos, preponderent pe nervuri, încolțăcându-se „țese” un aspect tomentos;
- peri tectori mai puțin numeroși, uniserati, alcătuiți din 4-6 celule globuloase sau ovoide și vârful ușor teșit.

Peri relativ mari glandulari sunt din abundență pe ambele epiderme ale laminei. Ei consatau dintr-un picioruș scurt format din 1-2 celule și o glandă sferică cu conținut de culoare brună.

Mezofilul laminei pe secțiuni transversale este de tip dorso-ventral cu un rând de celule palisadice sub epiderma superioară. Aceste celule sunt poligonale, bine împachetate și cu număr

mare de cloroplaste cu poziție preponderent parietală. Celulele mezofilului lacunos de formă sferic-lobată și spații intercelulare mari vin în contact cu epiderma inferioară.

Nervațiunea este bine pronunțată pe fața inferioară a laminei. În secțiuni transversale pe nervuri sub ambele epiderme se observă fășii de țesut mecanic de tip colenchim. Un fascicol vascular bine dezvoltat în nervura principală și mai mici în nervurile secundare (laterale), aranjate în arcurile șanțurilor (rilelelor) de pe fața superioară. Fasciculul de conducere este înconjurat de un strat de celule periciclice cu angrenare densă în lungul fascicului, formând o teacă fibroasă, ușor lignificată. În secțiune transversală cea mai mare parte a suprafeței fascicului ocupă liberul, format din celule vii cu pereți celulozici. Aria lemnului în fascicul este mai redusă, alcătuit din trahei, traheide și parenchim lemnos, înconjurat de o teacă îngustă de fibre lemnoase cu pereții lignificați, care contactează cu periciclul lignificat.

Investigații fitochimice

Studiul calitativ a compușilor fenilpropanici de tip C₆-C₃. Prezența compușilor fenilpropanici a fost identificată prin colorarea în roșu în rezultatul aplicării soluției de HCl 0,5 H, 1 ml reactiv Arnou și 1 ml soluție de NaOH 1H (5). Extractele analizate s-au colorat în roșu de diferite intensități în descreștere: frunzele, calatidiile, tulpinile de anghinarie.

Analiza calitativă a compușilor fenilpropanici de tip C₆-C₃ pe cromatograme în strat subțire de silicagel, bazată pe compararea Rf-rilor spoturilor extractelor analizate cu Rf-rile substanțelor martor a scos în evidență prezența acidului cafeic (Rf 0,95) și clorogenic (Rf 0,6) de culoare brună în lumina vizibilă și cu fluorescența brună-albastră în lumina UV în toate probele analizate. Alte spoturi neidentificate apar cu: Rf 0,5 – lumina vizibilă – spot brun, fluorescența violetă în UV; Rf 0,73 - lumina vizibilă – culoare albastră, fluorescență violet-cărămizie – UV, Rf 9,1- lumina vizibilă – spot brun, fluorescența cărămizie – UV.

Dozarea acizilor cafeic și clorogenic. S-a efectuat prin metoda spectrofotometrică, iar calculul concentrației compușilor fenilpropanici s-a determinat cu ajutorul unei curbe etalon, ca substanță de referință servind acidul cafeic.

Totalul acizilor fenilpropanici a variat, în acest caz, astfel: 0,348 mg/ml - în frunzele de anghinarie; 0,274 mg/ml în calatidiile de anghinarie și 0,241 mg/ml în tulpinile de anghinarie.

Concluzii

În rezultatul efectuării studiului s-au conturat în calitate de concluzii :

a) Caractere microscopice diagnostice ale frunzei de anghinarie:

- prezența a două tipuri de peritectori pe epiderma inferioară: cu baza uniserată și apex filamentos, subțire în formă de sfichi de bici, în abundență pe nervuri și mai puțin numeroși din 4-6 celule globulos-ovoide cu vârful ușor teșit;
- prezența perilor relativ mari glandulari (piciorușul din 1-2 celule și glanda unicelulară cu conținut brunificat) pe ambele epiderme;
- limb amfistomatic, stomate de tip anomocitic, mult mai numeroase și mai mici pe epiderma inferioară;
- mezofil de tip dorso-ventral;
- fascicule vasculare libero-lemnoase într-o teacă periciclică lignificată, localizate în rilele de pe epiderma superioară.

b) S-a pus în evidență prin metoda cromatografică prezența compușilor fenilpropanici de tip C₆-C₃ și anume acizii clorogenic și cafeic în toate probele analizate;

c) S-a determinat prin metoda spectrofotometrică totalul compușilor fenolici cu maximum de acumulare în frunzele de anghinarie.

Bibliografie

1. Adzet T., Camarasa J, Laguna J. Hepatoprotective effect of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCL4 toxicity in isolated rat hepatocytes. Journal of Natural products 1987, 50 (4), pag. 612-17.
2. Gerhardt R., Anticholestatic activity of flavonoids from artichoke *Cynara scolymus* L. and their metabolites, med. Sci. Monit., 2001, 7, uppl 1, pag. 316-320.

3. Li H., Xia N., Brausch I., Yao Y., Forstermann U. Flavonoids from artichoke *Cynara scolymus* L. Upregulate eNOS gene expression in human endothelial cells, JPET Fast Forward, 2003, 104. p.14-19.
4. Marakis G., Walker A.f., Middleton r.W., Booth J.C., Wright J., Pike D. J. Artichoke leaf extract reduces mild dyspepsia in an open study, Phytomedicine, 9 (8), 2002, pag. 694-699.
5. Oniga I., Benedec D., Hanganu D., Borșa A. Analiza Produselor Naturale Medicinale, Cluj-Napoca, Univ. Med. Farm. „Iuliu Hațieganu”. – 2004.
6. Pittlern M.N., Ernst E. Artichoke leaf extract for serum cholesterol reduction. Perfusion, 1998, 11, pag. 338-340.
7. Sánchez-Rabaneda F., Jáuregui O. , Lamuela-Raventós R. M. , Bastida J. , Viladomat F. and Codina C. Identification of phenolic compounds in artichoke waste by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, J. of Chromatography A, Vol. 1008, Issue 1, 2003, pag. 57-72.
8. Zgu XF., Zhang HX, Lo R. Antifungal activity of *Cynara scolymus* L. extracts, Fitoterapia, 2005, 76, p.108-111.
9. Zgu XF., Zhang HX, Lo R. Phenolic compounds of artichoke *Cynara scolymus* and their antimicrobial activities, J. Agric Food Chem, 2004, 52, pag. 7272-7278.
10. Wang M.F, Simon J.E., Aviles I.F., He K., Zheng Q.Y., Tadmor Y. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke *Cynara scolymus* L., J. Agr. Food Chem., 2003, 51, pag.601-608.

CULTURILE CELULARE ȘI TISULARE *IN VITRO* – SURSE DE SUBSTANȚE BIOLOGIC ACTIVE

Tatiana Calalb, Sofia Dolghier

Catedra Farmacognozie și Botanică farmaceutică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The cellular and tissue culture *in vitro* – source of biological active substances

Plants represent inexhaustible sources of valuable chemical natural substances. During the last years, frequently the medicinal plants have been utilized to produce different chemical compounds with important therapeutical effects by cellular and tissual cultures *in vitro*. A system of criteria was worked out, such as: the systematic appurtenance of donor-plants; the donor-organ used as a source of explant; the nature of histogen; the chemical nature of the produced substances; the therapeutical effects, the culture type of cultivation *in vitro* etc. to elaborate a screening about vegetal chemical substances produced by culture *in vitro*, which can express the present situation.

Rezumat

Plantele reprezintă surse inepuizabile de substanțe chimice naturale valoroase. În ultimul timp tot mai frecvent se încearcă antrenarea plantelor medicinale pentru producerea diferitor compuși chimici cu importante virtuți terapeutice prin culturi celulare și tisulare *in vitro*. A fost întocmit un sistem de criterii cum ar fi: apartenența sistematică a plantei-donator, organul-donator utilizat în calitate de sursă de explant, natura histogenului, natura chimică a substanțelor produse, acțiunea terapeutică, tipul microtehnicii de cultivare *in vitro* etc. pentru elaborarea unui screening privind producerea substanțelor chimice vegetale prin culturi *in vitro*, exprimând situația actuală.