

8. Fernandez J Lignocellulosic biomass production from annual energy crops. Report EUR 12631 EN-C- Commission of the European Communities, Luxemburg, 1990, 54 pag.
9. Florea V. Cultura Plantelor Medicinale, Chişinău, 2006, 312 pag.
10. Gebhardt R., Henke B., Fausel M., Antioxidative properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress determined in cultured rat hepatocytes are due to polyphenols and flavonoids. *European Journal of Cell Biology*, 1997, 72, p. 1023-1028.
11. Zhu X., Zhang H., Lo R., Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 2004, p. 7272-7278.
12. Рагимов М. Артишок. Колхозно-совхозное производство Таджикистана, 1969, nr. 4, стр. 12-16.
13. Хайдаров Р. Артишок. Сельское хозяйство Узбекистана, 1971, nr.10, стр. 16-19.

STUDIUL EXTRACȚIEI FLAVONOZIDELOR DIN SPECIA *CENTAUREA CYANUS* L.

Tatiana Țurcan¹, Anatolie Nistreanu¹, Eugen Diug², Natalia Corcodel¹

¹Catedra Farmacognozie și Botanică farmaceutică USMF „Nicolae Testemițanu”

²Catedra Tehnologia Medicamentelor USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The study of flavonoids extraction from Centaurea cyanus L.

Fluid extracts of aerial parts of *C. cyanus* L. have been analyzed for the first time. The optimal concentration of ethanol for flavonoids extraction (60%) has been determined. Qualitative comparative analysis of fluid extracts of *Cyani herba* and *Cyani flores* has been done using TLC.

Rezumat

Pentru prima dată s-au obținut și analizat extracte fluide din părți aeriene de *C. cyanus* L. S-a determinat concentrația alcoolului etilic (60%) care extrage maximum de flavonozide. S-a realizat analiza calitativă comparativă a flavonozidelor din extractele fluide de *Cyani herba* și *Cyani flores* prin cromatografie în strat subțire.

Actualitatea

Specia *C. cyanus* L., familia *Asteraceae* este o plantă anuală, ce crește prin semănături de cerealiere. În Republica Moldova se întâlnește spontan, în mare parte, la nordul țării. Produsul vegetal oficial este prezentat de florile marginale din inflorescență *Cyani flores*. Acestea intră în componența speciilor diuretice, aperitive, colagoge, antidiareice. Infuzia din flori se utilizează ca antiinflamator, dezinfectant, contra cearcanelor în oftalmologie și cosmetologie. Principalii componenți chimici sunt flavonozidele (antocianii, flavonolii, flavonele și heterozidele lor) [5].

Flavonozidele dețin un spectru larg de acțiune: antioxidantă, astringentă, hipoglicemiantă, antibacteriană, P-vitaminică, antiinflamatoare [2,4]. Pornind de la importanța acestor principii active pentru fitoterapie, ne-am propus realizarea unui studiu al părților aeriene de albăstriță, în vederea obținerii unui produs extractiv cu conținut de flavonozide.

Obiectivele

Studiul comparativ al metodelor de obținere a extractelor fluide și al factorilor care influențează extracția.

Materiale și metode

În calitate de produs vegetal au servit părțile aeriene de *C. cyanus* L. recoltate în perioada de înflorire și uscate în mod natural. În scopul studiului comparativ al extracției flavonozidelor din *Cyani herba* au fost folosite 3 metode: repercolarea cu fracționarea produsului vegetal în părți egale în ciclul terminat, repercolarea după metoda Squibb și percolarea [3].

Conform metodei de *repercolare cu fracționarea produsului vegetal în părți egale*, în percolatoare s-au introdus părți egale de produs vegetal. Produsul vegetal pentru primul percolator s-a umectat cu o cantitate egală de solvent; peste 4- 6 ore, materialul umectat s-a introdus în percolator și s-a macerat 24 ore cu o cantitate dublă de solvent, apoi s-a percolat până la epuizarea produsului. Din primul percolator s-au obținut 80% lichid extractiv față de masa produsului vegetal, după care s-a mai continuat percolarea și s-au obținut trei porțiuni de lichid extractiv mai diluate. Prima porțiune de lichid extractiv, egală cu masa produsului, s-a folosit pentru umectarea produsului vegetal din al doilea percolator; a doua porțiune de lichid extractiv - pentru macerare, iar a treia - la extracție, până la obținerea a 100% produs finit, față de masa produsului vegetal. S-a continuat percolarea și s-au separat trei porțiuni de lichid extractiv mai diluate, care s-au utilizat pentru materialul din cel de-al treilea percolator ș. a. m. d. Lichidul extractiv mai diluat din ultimul percolator s-a evaporat, sub vid, până la volumul de 20% față de masa materialului; extractul obținut s-a amestecat cu volumul total al lichidului extractiv percolat.

Conform *metodei Squibb* produsul vegetal fragmentat și trecut prin sită cu diametrul ochiurilor 3 mm a fost repartizat în 3 percolatoare: 5,0; 3,0; și 2,0 g (1:1) și 10,0; 6,0; și 4,0 g (1:2) corespunzător. O cantitate de 10,0 g produs vegetal se împarte în 3 părți: în primul percolator se introduc 5,0 g, în al doilea percolator 3,0 g și în al treilea percolator - restul de 2,0 g. Se adaugă solventul în primul percolator și după macerare se extrage o primă fracțiune de lichidul care se separă (2 ml), se continuă percolarea și se mai separă 3 fracțiuni a câte 3 ml lichid extractiv. Cu aceste 3 fracțiuni secundare, adăugate succesiv, se percolează produsul vegetal din al doilea percolator. Se separă o primă fracțiune de 3 ml lichid extractiv și încă 3 fracțiuni secundare a câte 2 ml fiecare. Aceste 3 fracțiuni secundare servesc la percolarea produsului vegetal din cel de-al treilea percolator, de unde se separă 5 ml lichid extractiv. Fracțiunile principale separate inițial din cele 3 percolatoare se reunesc.

Tinctura de albăstriță a fost obținută prin *metoda de percolare* în raport de 1:5, având următoarele etape ale procesului tehnologic de preparare: pregătirea amestecului hidroetanolic, fragmentarea produsului vegetal, umectarea produsului vegetal, introducerea amestecului umectat în percolator, adăugarea solventului și macerarea, percolare propriu-zisă, sedimentarea la rece, decantarea și filtrarea percolatorului.

Analiza calitativă a flavonozidelor din extracte a fost efectuată prin CSS [1].

Soluție de referință. 5 mg rutozidă, quercetol, quercitozidă, hiperozidă se dizolvă în 10 ml etanol 96%.

Faza staționară. Placă de silicagel.

Faza mobilă. Acid formic anhidru: apă: etilacetat (6:9:90)

Distanța parcursă. Nu mai puțin de 10 cm de la linia de start.

Uscarea. La aer 10 - 15 minute.

Developarea. Placa după pulverizare cu soluțiile acid difenilboric 10 g/l al eterului aminoetilic în metanol, macrogol 400 în metanol, se menține timp de 10 min în termostat la 100°C până la 105°C și se examinează în UV la 365 nm.

Dozarea flavonozidelor a fost efectuată prin metoda spectrofotometrică [4]. Conform metodei, 1 ml extract fluid se trece într-un balon cotat de 25 ml, se adaugă 4 ml soluție AlCl₃ 5%. Pentru pregătirea soluției de comparare în al doilea balon cotat de 25 ml se adaugă 1 ml extract de analizat, după care ambele colbe se aduc până la cotă cu alcool etilic de 60% și se lasă la temperatura camerei 30 min. Absorbanța optică se masoară la lungimea de undă 415 nm.

Pentru trasarea graficului de calibrare, care exprima dependența absorbanței de concentrația rutozidei, 0,05 g de rutozidă se trece într-un balon cotat cu capacitatea de 50 cm³, se

adaugă 40 ml de alcool etilic de 60%, se încălzește pînă la temperatura de 50 – 60⁰ C pînă la dizolvarea rutozidei, apoi se răcește pînă la temperatura camerei și se aduce pînă la cotă cu alcool etilic 96%. Pentru prepararea complexului cu AlCl₃, în baloanele cotate A și B cu capacitatea de 25 ml, se adaugă soluție de rutozidă și se prelucrează în modul indicat mai sus, obținînd o soluție de analizat cu AlCl₃ și una de referință, fără AlCl₃. Dependența absorbantei de concentrația rutozidei prezintă o linie dreaptă ce trece prin axa coordonatelor.

Rezultate și discuții

Pentru determinarea concentrației solventului (extragentului) care extrage maximum de flavonozide din *Cyani herba* s-au pregătit extracte fluide 1:1 prin două metode de repercolare: cu fracționarea produsului vegetal în părți egale și metoda Squibb.

Conform datelor obținute rezultă că maximum de flavonozide din *Cyani herba* se extrage prin metoda de repercolare cu fracționarea produsului vegetal în părți egale 1:1 cu alcool etilic cu concentrația de 60% (fig.1).

Tabelul 1

Determinarea concentrației solventului (extragent) care extrage maximum de flavonozide din *Cyani herba*

Metoda de repercolare			
Squibb 1:1		Repercolarea cu fracționarea produsului vegetal în părți egale 1:1	
Extragent	Cantitatea flavonozidelor, %	Extragent	Cantitatea flavonozidelor, %
Alcool etilic 20 %	0,03	Alcool etilic 20 %	0,06
Alcool etilic 40 %	0,20	Alcool etilic 40 %	0,49
Alcool etilic 60 %	0,27	Alcool etilic 60 %	0,55
Alcool etilic 80 %	0,21	Alcool etilic 80 %	0,46
Apă purificată	–	Apă purificată	–

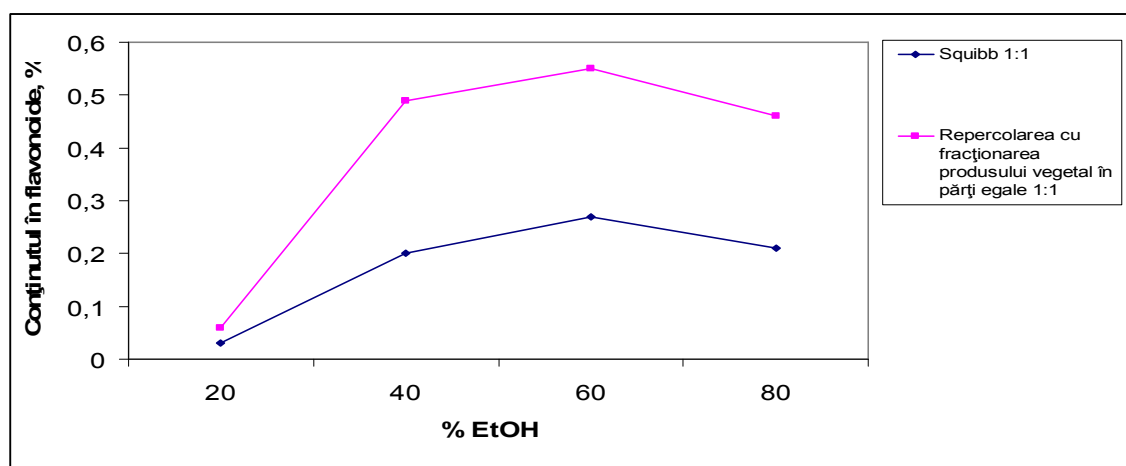


Fig. 1. Extracția flavonozidelor din *Cyani herba* cu alcool etilic (concentrații diferite)

În vederea realizării unui produs extractiv standardizat al părților aeriene de albăstriță, ne-am propus să efectuăm un studiu comparativ al metodelor de obținere a extractelor fluide și al factorilor care influențează extracția.

Cea mai mare cantitate de flavonozide (0,46%) se conține în extractul fluid de *Cyani herba* obținut în raport de 1:1 prin metoda repercolare cu fracționare produsului vegetal în părți egale (tabelul 2).

Conținutul de flavonozide în produse extractive de albăstriță, extragent – alcool etilic 70%

Conținutul de flavonozide, %			
Nr.	Extract fluid (1:1) <i>fracționarea PV în părți egale</i>	Extract fluid (1:2) <i>metoda Squibb</i>	Tinctură (1:5) <i>percolare</i>
1	0,44	0,44	0,33
2	0,43	0,44	0,32
3	0,45	0,44	0,31
4	0,47	0,43	0,31
5	0,5	0,44	0,32
6	0,47	0,45	0,31
media	0,46	0,44	0,32
Parametrii statistici			
S	0,0253	0,0063	0,0082
Sx	0,0103	0,0026	0,0033
e95	0,0265	0,0066	0,0086
Abat. Rel (Cv)	5,4996	1,4374	2,5784
Precizia 95	5,7715	1,5085	2,7059

Rezultatele identificării flavonozidelor în extracte fluide hidroetanolicе de *Cyani herba* și *Cyani flores* prin metoda cromatografiei pe strat subțire (CSS) sunt arătate în figura 2.

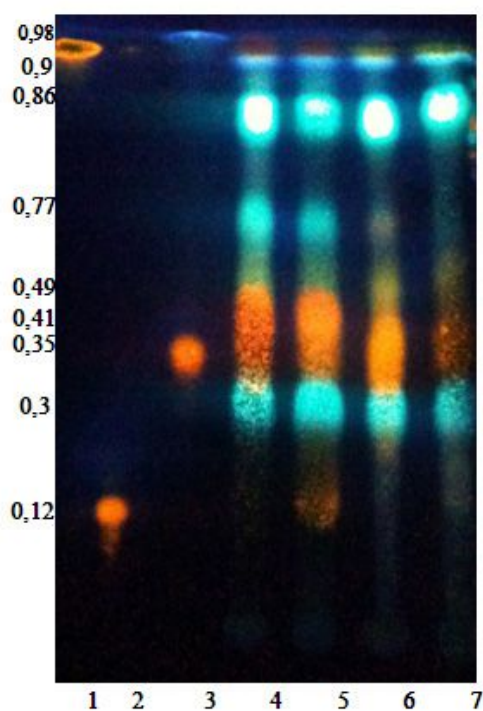


Fig. 2. CSS pentru extractele de *Cyani herba* și *Cyani flores* în UV
 1 – quercetol, 2 – rutozidă, 3 – hiperozidă, 4 – *Cyani herba* extract fluid 70%,
 5 – *Cyani herba* extract fluid 60%, 6 – *Cyani flores* extract fluid 70%, 7 – *Cyani flores*
 extract fluid 60%

Din analiza calitativă a flavonozidelor prezentate în cromatogramă (fig. 2), rezultă că atât în părți aeriene (extracte fluide 70% și 60%) cât și în flori (extracte fluide 70% și 60%) sunt prezente 5 fracțiuni flavonozidice cu fluorescență galben-portocalie, dintre care una este identică cu hiperozida (Rf 0,35) și una cu rutozida (Rf 0,12). Alte fracțiuni flavonozidice apar la Rf 0,41; 0,49 și 0,98. Acidul clorogenic (Rf 0,3) și acidul cafeic (Rf 0,86) prezintă fluorescență albastră.

Concluzii

Au fost obținute și analizate extracte fluide din părți aeriene de albăstriță (*Cyani herba*). S-a demonstrat că maximum de flavonozide din *Cyani herba* se extrage prin metoda de repercolare cu fracționarea produsului vegetal în părți egale 1:1 cu alcool etilic cu concentrația de 60%. Cea mai mare cantitate de flavonozide (0,46%) se conține în extractul fluid de *Cyani herba* obținut în raport de 1:1 prin metoda repercolare cu fracționarea produsului vegetal în părți egale.

Analiza calitativă a flavonozidelor s-a realizat prin CSS. Rezultatele arată că în extract fluid de *Cyani herba* și în cel de *Cyani flores* se regăsesc aceleași fracțiuni flavonozidice.

Bibliografie

1. European Pharmacopoeia 6.0, vol. 2, p. 2958 – 2959
2. Garbacki N., Gloguen V., Damas J. Antiinflammatory and immunological effects of *Centaurea cyanus* flower-heads, *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, vol. 68, p. 235 – 241
3. Popovici I., Lupuleasa D. Tehnologia farmaceutică, volumul I, Iași 1997, p. 379
4. Лобанова А.А, Будаева В.В, Сакович Г.В. Химия растительного сырья. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья 2004, №1, с. 47 – 52
5. Муравьёва Д.А., Бубенчикова В. Н., Беликов В. В. Спектрофотометрическое определение суммы антоцианов в цветках Василька синего, *Фармация*, 1987, № 5, с. 28 – 29