

# TOTALUL POLIFENOLIC ÎN PRODUSUL VEGETAL *CYNARAE FOLIA* RECOLTAT ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Cristina Ciobanu<sup>1</sup>, Tatiana Calalb<sup>2</sup>, Eugen Diug<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Catedra Tehnologia medicamentelor

<sup>2</sup>Catedra Farmacognozie și Botanică farmaceutică

## Summary

### *Total polyphenolic content of Cynarae folium from the Republic of Moldova*

As a result of the performed work the technology of obtaining extracts from artichoke leaves on various extragents demineralised water, 35, 70 and 90 % v/v ethanol and methanol was developed. The extracts were obtained by re-percolation, conventional maceration and percolation. The quantitative determination of total polyphenolic content from artichoke leaves extracts was performed by the spectrophotometric method.

## Rezumat

S-au testat diferite metode de obținere a extractelor vegetale din *Cynarae folia* folosind diferiți extragenți: alcool etilic, metanol și apă purificată. Au fost obținute extracte fluide utilizând percolarea, repercolarea și macerarea. S-a efectuat analiza cantitativă a totalului polifenolic în extractele obținute utilizând metoda spectrofotometrică.

## Actualitatea

Anghinare *Cynara scolymus* L. este o plantă ierbacee, perenă, vivace, introdusă în colecția Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale (CC a PM) a USMF "Nicolae Testemițanu" în anul 2002 [1].

În trecut pentru tratarea diferitor maladii hepatice și afecțiuni digestive se utiliza întreaga plantă de anghinarie. Actualmente, în scopuri farmaceutice, ca produs vegetal pe plan mondial sunt recunoscute doar frunzele de anghinare *Cynarae folia*. Anghinarea formează în primul an de vegetație o rozetă de frunze bazale cu lungimea de până la 80 cm, iar în al 2-lea an de vegetație dezvoltă frunze tulpinale, alterne, de culoare verde pe suprafața superioară și argintie pe suprafața inferioară [3,8].

Produsul vegetal *Cynarae folia* reprezintă adevărate depozite de compuși naturali determinate de prezența polifenolilor (cinarină și alți compuși clorogenici); flavonoidelor (cinarozida, scolimozida); principiilor amare (cinaropicrina, cinaratriol); compușilor sterolici (taraxasterol, pseudotaraxasterol), vitaminelor și substanțelor tanante [6,7].

*Cynarae folia* face parte din componența speciilor hepatoprotectoare și hepatostimulatoare, coleretice, diuretice, hipercolesterolemice, antimicrobiene, antioxidante [5]. Pornind de la importanța principiilor active pentru fitoterapie, ne-am propus realizarea unui studiu al produsului vegetal *Cynarae folia* în vederea obținerii unui produs extractiv cu conținut de polifenoli.

## Scopul

Studiul comparativ al extragenților și metodelor de obținere a extractelor fluide din *Cynarae folia* și determinarea totalului polifenolic în ele.

## Materiale și metode

În calitate de fitomateriale au servit frunzele de anghinare *C. scolymus* L. din colecția CC a PM a USMF "Nicolae Testemițanu, care au fost evaluate după complexul de indici biomorfologici, recoltate și uscate conform documentelor normativ-tehnice.

Obținerea extractelor din *Cynarae folia* s-a efectuat prin metodele: repercolarea cu fracționarea produsului vegetal în părți egale, după metoda *Bosin*, repercolarea cu fracționarea produsului vegetal în părți neegale, după metoda *Squibb*, percolarea și macerarea [2].

În calitate de extragenți s-au utilizat alcool etilic de 35%, 70% și 90%, apă purificată și metanol. Procesul tehnologic a inclus etapele: pregătirea solventilor, fragmentarea produsului vegetal, umectarea produsului vegetal, introducerea amestecului umectat în percolator, adăugarea solventului și macerarea, extracția propriu-zisă, sedimentarea la rece, decantarea și filtrarea extractului.

Conform metodei *Squibb* produsul vegetal (frunze de anghinare) fragmentat a fost repartizat în 3 percolatoare cilindrice din sticlă, corespunzător 10,0; 6,0; și 4,0g. Solventul (alcool etilic 35%, 70% și 90%) s-a adăugat în primul percolator cu ajutorul unei pompe cu viteză constantă de 0,025 ml/min.

După macerare din primul percolator a fost obținută prima fracțiune de lichid (8 ml) în continuare din al 2-lea percolator a fost obținută a doua fracțiune de lichid extractiv (12 ml) și în cele din urmă din al 3-lea percolator a fost obținută ultima fracțiune (20 ml). În total s-a obținut 40 ml de lichid extractiv, care corespund raportului produs vegetal/lichid extractiv - 1:2.

Tehnologia de fabricare a extractului fluid de anghinare după metoda *Bosin*: produsul vegetal fragmentat, în cantitate de 15 g, sa repartizat egal în trei percolatoare. Solventul (alcool etilic 35%, 70% și respectiv 90%) s-a adăugat în primul percolator cu ajutorul unei pompe cu viteză constantă de 0,025 ml/min. Sa umectat și macerat produsul în primul percolator. Apoi extractul din primul percolator se trece în percolatorul 2, după macerare extracția din percolatorul 2 se trece în percolatorul 3. Percolatorul 2 se umple cu soluția extractivă intermediară din percolatorul 1, care tot timpul se alimentează cu extragenț curat. A doua zi din percolatorul 3 s-a obținut, prima parte de extract finit volumul căruia este egal cu cantitatea dublă de produs vegetal de anghinare aflată în percolatorul 3. Lichidul din percolatorul 1 s-a trecut complet în percolatorul 2 și s-a exclus din baterie. Lichidul din percolatorul 2 în prealabil a fost scurs și trecut în percolatorul 3. După macerare am obținut a doua porțiune de extract. În total s-a obținut 30 ml de lichid extractiv care corespund raportului produs vegetal/ lichid extractiv - 1:2.

Tinctura din frunze de anghinare 1:5 a fost obținută prin metoda de macerare fracționată utilizând în calitate de extragenț alcool etilic de 70%. Din 10 g produs vegetal *Cynarae folia* au fost obținuți 50 ml de lichid extractiv.

Dozarea totalului polifenolic a fost efectuată prin metoda spectrofotometrică [4].

Conform metodei 0,1 ml extract se trec într-un balon cotat de 50 ml, se adaugă 5 ml soluție acid fosfowolframic 1% și se agită. Volumul se aduce la cotă cu hidrocbonat de sodiu de 20%. În alt balon cotat de 50 ml s-a preparat soluția de compensare: 0,1 ml apă purificată, 5 ml soluție acid fosfowolframic 1%, hidrocbonat de sodiu de 20% pînă la cotă. Spectrele au fost înregistrate la spectrofotometrul *UV-VIS "Perkin Elmer" Lambda-40*, la lungimea de undă 370nm.

## Rezultate și discuții

Pentru determinarea totalului polifenolic (%) în extractele obținute din *Cynarae folia* prin metodele de repercolare după *Bosin*, după *Squibb*, percolare și macerare, sa efectuat graficul de calibrare (fig.1).

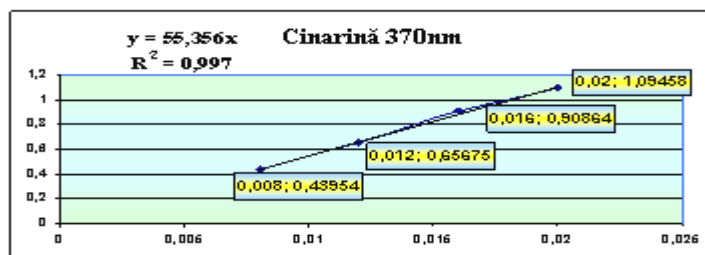


Fig.1 Graficul de calibrare pentru cinarină

Conform metodei: 0,010g de cinarină s-a trecut într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml, s-a dizolvat și s-a adus la cotă cu apă purificată. Din soluția obținută 3 ml s-au introdus într-un balon cotat de 25 ml, la care s-a adăugat 2,5 ml soluție acid fosfowolframic de 1% și s-a adus pînă la cotă cu hidrocarbonat de sodiu de 20% astfel obținând soluția probă. S-a stabilit intervalul de concentrații în care se respectă legea absorbantei și s-a construit graficul de calibrare.

Totalul polifenolic a fost determinat spectrofotometric, în 6 repetări, iar rezultatele au fost prelucrate statistic cu programul *GrathPad InStat* (tabelul 1).

Tabelul 1.

**Conținutul total al compușilor polifenolici (%) în produsele extractive de *C. scolymus* L.**

Nr. prob.	<i>Extract fluid (1:2), Metoda Squib</i>			<i>Extract fluid (1:2), Metoda Bosin</i>			<i>Extract fluid (1:1)</i>	<i>Tinctura (1:5)</i>	<i>Extract metanol</i>	<i>Extract apos</i>
	Alcool etilic 35%	Alcool etilic 70%	Alcool etilic 90%	Alcool etilic 35%	Alcool etilic 70%	Alcool etilic 90%	Alcool etilic 70%	Alcool etilic 70%	Metanol absolut	Aq. purif.
Nr.1	0,578	0,631	0,647	0,423	0,745	0,601	0,335	2,054	1,519	2,154
Nr.2	0,587	0,655	0,651	0,407	0,784	0,605	0,329	2,071	1,541	2,159
Nr.3	0,559	0,648	0,638	0,417	0,798	0,608	0,351	2,068	1,533	2,158
Nr.4	0,554	0,647	0,647	0,405	0,747	0,617	0,332	2,059	1,521	2,144
Nr.5	0,567	0,668	0,650	0,400	0,702	0,602	0,338	2,053	1,534	2,153
Nr.6	0,573	0,621	0,621	0,412	0,789	0,601	0,348	2,064	1,525	2,147
Media	<b>0,570</b>	<b>0,645</b>	<b>0,642</b>	<b>0,411</b>	<b>0,761</b>	<b>0,606</b>	<b>0,339</b>	<b>2,062</b>	<b>1,529</b>	<b>2,153</b>
<i>Parametri statistici</i>										
S	0,0122	0,0168	0,0114	0,0084	0,0363	0,0061	0,0088	0,0073	0,0085	0,0059
Sx	0,0049	0,0068	0,0046	0,0034	0,0148	0,0025	0,0036	0,0030	0,0034	0,0024
e <sub>95</sub>	0,0128	0,0176	0,0119	0,0088	0,0381	0,0064	0,0092	0,0077	0,0089	0,0062
Precizia <sub>95</sub>	2,2522	2,7361	1,8647	2,1481	5,0169	1,0718	2,7382	0,3765	0,5863	0,2904
CV	2,14	2,60	1,77	2,04	4,78	1,02	2,60	0,35	0,55	0,27

Notă: S – deviația standard, Sx – eroarea standard, CV – coeficient de variație

Din datele obținute (tabelul 1) rezultă că cel mai eficient extragent pentru compușii polifenolici este apa purificată cu conținutul polifenolic - 2,153%, apoi în descendență alcool etilic de 70% - 2,062% și metanolul absolut - 1,529%.

În tinctura (1:5) de *Cynarae folia* extragerea componentelor polifenolici este mai eficientă - 2,062%, față de conținutul polifenolic prezent în extractul fluid (1:1) care este 0,339%, utilizând același extragent alcool etilic de 70%.

Rezultatele denotă că cea mai bună din metodele testate pentru obținerea extractelor fluide (1:2) este reperlarea cu fracționarea produsului vegetal în părți egale, după metoda

*Bosin*, cu extragent alcool etilic de 70%, conținutul total al compușilor polifenolici extras – 0,761%.

### **Concluzii**

S-a demonstrat faptul că maximul compușilor polifenolici din *Cynarae folia* se extrage utilizând ca solvent apă purificată, alcool etilic de 70% și metanol.

Cea mai eficientă metodă de obținere a extractelor fluide (1:2) este repercolarea cu fracționarea produsului în părți egale, metoda Bosin, folosind alcool etilic de 70 % în calitate de extragent.

### **Bibliografie**

1. Bodrug M., Grădina de Plante Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu”, Buletinul AȘM. Științe Medicale, 2005, nr. 2 (2), p. 102-107.
2. Barbăroșie I, Diug E., Ciobanu N., Tehnologia medicamentelor industriale. Chișinău: Știința, 1993, p. 197-205.
3. Ciobanu C., Calalb T., Diug E., Morfo-biometria plantelor de *Cynara scolymus* L. cultivată în colecția de plante medicinale a Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale a USMF “Nicolae Testemițanu”. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu din Republica Moldova. Analele științifice., 2011 , Ed. a X-a 12-a: Vol.1, p. 431-436.
4. Farmacopeea Romană Ed. X, Ed. Medicală, București, p. 334-335.
5. 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, nr. 72, p. 1023-1028.
6. Sanchez-Rabameda F., Jauregui O. , Lamuela-Raventos R. M. , Bastida J. , Viladomat F. and Codina C. Identification of phenolic compounds in artichoke waste by highperformance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 2003, nr. 1008, p. 57-72.
7. 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, 2004, nr. 52, p. 7272-7278.
8. Чобану К., Морфо-анатомическое строение листьев артишока (*Cynara scolymus* L.), выращенного в условиях Республики Молдова. Modern Phytomorphology 2:, Львов, 2012, с.145–148.

## **VARIABILITATEA COMPOZIȚIEI CHIMICE ȘI CONTRIBUȚII LA STANDARDIZAREA FRUCTELOR DE ARMURARIU (*SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN)**

**Igor Casian<sup>1</sup>, Ana Casian<sup>1</sup>, Ion Ungureanu<sup>2</sup>**

Centrul Științific în domeniul Medicamentului<sup>1</sup>, Centrul de Cultivare a Plantelor Medicinale<sup>2</sup>

### **Summary**

#### ***The chemical composition variability and contributions to the Milk-Thistle fruit standardisation***

The chemical analysis of 12 samples of the Milk-Thistle fruits, cultivated in various localities, has revealed a significant variability of the contents of different flavonolignane fractions. Reproduction of samples of this plant in identical conditions has allowed to assume, that this variability is caused by presence of various genotypes. To assure the possibility of obtaining of the Milk-Thistle dry extract, which meets the requirements of the European Pharmacopoeia, we recommend to make changes in the pharmacopoeical monograph for the