

Studiul farmacognostic al unor specii saponifere din familiile *Asparagaceae* și *Liliaceae*

Gh. Goreanu

Catedra Farmacognozie și Botanică Farmaceutică, USMF "Nicolae Testemițanu"

Pharmacognosical Study of Some Species of Saponins from the Family of *Asparagaceae* and *Liliaceae*

The study examined the creation of vegetal produce containing saponins by *Asparagus officinalis* L., *Asparagus tenuifolius* Lam., *Asparagus verticillatus* L., *Lilium henryi* Baker, *Lilium martagon* L. and *Lilium regale* Wils. Rootstocks with roots of *A. officinalis* L., *A. tenuifolius* Lam., *A. verticillatus* L. and the bulbs of *L. henryi* Baker, *L. martagon* L. and *L. regale* Wils – all of which produce saponins - were pharmacognostically and phytochemically examined. The authors also studied the pharmaceutical production of „*Asparaginis officinalis rhizomata cum radicibus*” and „*Asparagozidum*” as well as their antiradical activity.

Key word: vegetal produce, saponins, antiradical activity.

Фармакогностическое исследование некоторых сапониноносных видов семейств *Спаржевых* и *Лилейных*

На основании литературных источников и собственных исследований изучаются лекарственные растения: *Asparagus officinalis* L., *Asparagus tenuifolius* Lam., *Asparagus verticillatus* L., *Lilium henryi* Baker, *Lilium martagon* L. и *Lilium regale* Wils – источник растительного сырья, содержащего сапонины. Изучены фармакогностически и фитохимически корневища и корни *A. officinalis* L., *A. tenuifolius* Lam., *A. verticillatus* L., луковицы *L. henryi* Baker, *L. martagon* L. и *L. regale* Wils, содержащие сапонины. Предложен метод получения двух лекарственных средств („*Asparaginis officinalis rhizomata cum radicibus*” и „*Asparagozidum*”). Также представлена антирадикальная активность исследованных лекарственных средств.

Ключевые слова: растительное сырье, сапонины, антирадикальная активность.

Introducere

În ansamblul de cercetări științifice actuale din domeniile medicinei și farmaciei, investigarea plantelor medicinale ca obiect de studiu al farmacognoziei – știință farmaceutică – are o pondere semnificativă. Farmacia prin intermediul farmacognoziei identifică și studiază noi și noi plante medicinale, corespunzător produse vegetale, cu conținut de noi substanțe biologice active (SBA) ca principii active, noi proprietăți terapeutice.

Printre grupurile principale de produse vegetale (PV), grupul produselor cu conținut de saponine ca principii active este unul dintre cel mai puțin numeroase, fapt pentru care mai multe centre științifice desfășoară cercetări de identificare și de descriere a noi produse vegetale cu conținut de saponine și a noi saponine cu activitate fiziologică semnificativă [1].

Saponinele sunt compuși vegetali de doua tipuri: glicozide triterpenice și glicozide C₂₇ – steroidice (spirostanolice și furostanolice) [1]. În baza glicozidelor steroidice, în diferite perioade au fost obținute și introduse în practică un șir de produse farmaceutice cu diverse acțiuni: hipocolesterolemice (*Polisponina* și *Tribusponina*) [2-7], adaptogenă (*Tribestan*, *Tribelus*) [8] et al. În agricultură capătă aplicare preparatele fitoreglatoare *Pavstim*, *Moldstim*, *Ecostim*, produse în Moldova pe bază de glicozide steroidice [9, 10-12]. O realizare mai recentă este elaborarea de către specialiștii din Moldova a preparatului antiviral hepatoprotector *Pacovirina* [8].

În ultimele decenii se examinează proprietățile antitumorale [13-20], antioxidante [21-24], hipocolesterolemice [25-26], fungicide [27-32], membranotrope [1], diuretice [33], cardiotonice [34], hepatoprotectoare [8] ale saponinelor.

Relativ puțin, în comparație cu saponinele triterpenice, sunt studiate saponinele steroidice.

De aceea, atât identificarea, descrierea și punerea în evidență și circuit a noilor produse vegetale medicinale (PVM) cu conținut de saponine, cât și descrierea și studierea multilaterală a unor compuși saponinici cu noi proprietăți farmacologice, acceptabili pentru introducerea în circuitul farmaceutic rămâne sarcină actuală a farmaceuticii, în special al domeniului farmacognoziei.

Identificarea influenței particularităților de structură a SBA, inclusiv a saponinelor, în manifestarea activității biologice și prognozarea proprietăților farmacologice este un alt obiectiv al farmacognoziei, chimiei farmaceutice, chimiei bioorganice a farmaceuticii (în ansamblu, a altor domenii de cercetare cu interes în crearea de noi produse medicinale).

Deși de mai mult timp sunt cunoscute unele proprietăți valoroase ale saponinelor steroidice care sunt atestate științific din anul 1875, la etapa inițială a prezentei cercetări domeniul glicozidelor steroidice rămânea unul dintre cele mai puțin studiate compartimente ale chimiei compușilor naturali. Astfel, până în anul 1972 în bibliografia științifică erau descrise numai circa 40 de saponine steroidice [35].

Cu toate că până în prezent a fost stabilită structura chimică a peste 1000 de glicozide steroidice native, descoperirea surselor vegetale noi de compuși biologic activi din grupul saponinelor, elaborarea procedeelelor de obținere și de stabilire a structurii chimice a compușilor menționați sunt probleme actuale, atât din punct de vedere fundamental, cât și aplicativ pentru industriile farmaceutică, agricolă, cosmetică etc.

În baza examinării, din publicațiilor științifice, a nivelului actual al cercetărilor și al rezultatelor privind studiile botanice fitochimice și farmacognostice ale speciilor genurilor *Asparagus* și *Lilium* reiese următoarele:

- speciile de *Asparagus* și *Lilium* posedă diverse proprietăți terapeutice cunoscute, la nivelul medicinei populare, și insuficient studiate – la nivel științific;
- speciile în cauză nu au fost examinate de pe pozițiile farmaceuticii, fapt care a reținut elaborarea unor produse medicinale în baza lor; până la inițierea prezentului studiu nu existau cercetări farmaceutice complexe și generalizatoare ale speciilor în cauză, cu elaborări și cu recomandări concrete pentru practica farmaceutică;
- nu sunt cunoscute principiile active responsabile de activitățile terapeutice;
- unele proprietăți terapeutice ale speciilor în cauză, cum ar fi cea diuretică, indică asupra unei posibile prezențe a saponinelor în țesuturile și în organele speciilor nominalizate.

Aceste concluzii au servit ca punct de pornire pentru formularea scopului prezentei lucrări care constă în *aprofundarea și în extinderea cunoștințelor privind produsele vegetale medicinale cu conținut de principii active steroidosaponinice în baza identificării, a examinării și a descrierii farmacognostice și fitochimice, a punerii în evidență a noi plante și produse vegetale medicinale cu conținut de saponine, a noi compuși chimici naturali bioactivi din speciile Asparagus și Lilium.*

Materiale și metode de investigare

În calitate de obiecte de cercetare farmacognostică (morfoloagică, anatomică și fitochimică) au servit rizomii, rădăcinile și părțile aeriene de la speciile de *Asparagus*, bulbii și frunzele de la speciile de *Lilium*, care au fost colectate în diferite faze de vegetație (creștere intensivă, înflorire, fructificare, maturizare) de la plantele cultivate pe sectorul colecției Grădinii Botanice a AȘM (*Lilium henryi*, *L. regale*, *L. martagon*) și de la cele spontane (*Asparagus officinalis*, *A. tenuifolius* și *A. verticillatus*). Examinării anatomice și celei fitochimice au fost supuse probe proaspete și uscate ale produselor studiate. Pentru analizele fitochimice au fost utilizați solvenții: cloroform, benzen, acetona, eter dietilic, eter sulfuric, piridină, amoniac concentrat, metanol, etanol, n-butanol, apă purificată. Pentru obținerea de noi date privind activitatea antiradicală a saponinelor steroidice în calitate de substanță test a fost utilizat preparatul extractiv, pe baza totalului de glicozide steroidice (furostanolice și spirostanolice), *Asparagozidum* [24].

Preparatul *Asparagozidum* a fost obținut prin extragerea din rizomii și din rădăcinile de *Asparagus officinalis* L. cu alcool etilic de 70%, precipitare, după înlăturarea alcoolului prin distilare, din reziduul apos cu acetona și purificarea cromatografică pe coloane cu *Silicagel* și sisteme de solvenți acceptate pentru separarea cromatografică a saponinelor steroidice și prezintă un praf de culoare cafeniu-descisă (umiditatea – 5%, reziduul de cenușă – 5%), cu un conținut total de circa 80% – saponine (50% – glicozide furostanolice și 25-30% – glicozide spirostanolice) și 20-25% substanțe însoțitoare.

Activitatea antiradicală s-a determinat prin metoda titrării potențimetrice de determinare *in vitro* a capacității antioxidante (capacitatea de captare a radicalilor de oxigen) ORAC (*Oxygen Radical Absorption Capacity*) descrisă și aplicată de Sano și de coautori pentru determinarea activității antiradicalice a flavonoizilor și a extratelor vegetale [36] în modificarea Ivanova [37], cu utilizarea titratorului potențimetric *Titro-Line Easy* (Shott, Germania) și a dozatorului electronic *Arise model A 1000-1*.

Cercetările biologice care au presupus investigațiile macroscopice și microscopice ale speciilor *Asparagus officinalis*, *A. tenuifolius*, *A. verticillatus*, *Lilium henryi*, *L. regale* și *L. martagon* s-au efectuat la catedra Farmacognozie și Botanică Farmaceutică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și la catedra Botanică a Universității de Stat din Moldova.

Fixarea materialului colectat s-a efectuat cu alcool etilic 70% și cu soluție de formalină de 4%. Preparatele anatomice s-au pregătit manual, s-au studiat și s-au analizat folosind microscopul *Biolam* și microscopul fonic MBU-1, dotat cu ocular micrometric și cu adaptor pentru fotografiere cu dispozitivul de tip MF-12U 4.2.

Cercetările fitochimice ale produselor vegetale de la speciile de *Asparagus* și *Lilium*, nominalizate anterior, au fost supuse investigațiilor fitochimice aplicând metodele preconizate de farmacopeea de stat (FS XI). Localizarea saponinelor în țesuturile vegetale s-a stabilit folosind reactivile *Ehrlich* și *Sannie* (la încălzirea micropreparatelor).

Rezultate și discuții

Părțile aeriene ale speciilor investigate din familiile *Asparagaceae* și *Liliaceae* (frunze, flori, tulpini), după colectare, au fost întinse în strat subțire, uscate natural la loc ferit de razele solare directe, apoi fragmentate. Rizomii, rădăcinile și bulbii au fost curățate în mod mecanic de pământ, spălate sub un jet cu apă rece, mărunțite și uscate la temperatura de 50 °C. Produsele vegetale, astfel pregătite și proaspete, au servit pentru investigațiile ulterioare. Studiul și descrierea detaliată a caracterelor macroscopice și microscopice ale speciilor *Asparagus officinalis* L., *Asparagus tenuifolius* Lam. și *Asparagus verticillatus* L. au fost expuse în publicația anterioară [38-40]. Caracteristicile morfologice generale pentru speciile de *Asparagus* sunt:

- structura florilor și varietățile de filocladii;
- tulpinile sunt bine dezvoltate, cilindrice, cu excepția *Asparagus verticillatus*, care are o tulpină slab dezvoltată, frunzele sunt scvamiforme, filocladiile sunt late sau filiforme, asimilatoare, 1-3 cm lungime. Florile sunt mici, alb-verzui, situate la vârful tulpinii principale și ale ramurilor, părțile aeriene sunt de culoare verde, cu un miros și un gust slab caracteristic;
- rizomii se prezintă sub formă de fragmente neregulate, cu lungimea de până la 8 cm și cu grosimea de până la 1,5 cm, la *A. officinalis*, și cu lungimea de până la 6 cm și cu grosimea de până la 0,9 cm, la *A. verticillatus* și la *A. tenuifolius*, rădăcinile sunt filiform-alungite cu suprafața încrețită de diferită lungime, până la 5 mm în grosime, culoarea externă

este asemănătoare – cafeniu-închisă, iar cea internă – brun-deschisă. Rizomii și rădăcinile nu au miros, au un gust amar-dulciu.

Din șirul caracteristicilor structurii anatomice ale tulpinii și ale rădăcinii speciilor *Asparagus officinalis*, *A. tenuifolius*, *A. verticillatus* [39] au fost identificate ca fiind diagnostice următoarele:

- tulpina și rădăcina acestor specii au structura primară;
- la toate speciile investigate parenchimul scoarței are celule cu multe cloroplaste;
- inelul mecanic este cel mai bine dezvoltat la speciile *Asparagus tenuifolius* și *A. officinalis* și mai slab dezvoltat și neuniform distribuit la tulpina speciei *A. verticillatus*.
- la specia *Asparagus tenuifolius* se înregistrează unele celule ale scoarței cu rafidii de oxalat de calciu, ceea ce deosebește anatomic rădăcinile acestei specii de produsele similare de la speciile *A. officinalis* și *A. verticillatus*.

Similar au fost examinate și particularitățile morfoanatomice ale speciilor de *Lilium* [41-43] care pot servi drept caractere diagnostice ale produselor vegetale din speciile de *Lilium*.

Astfel, caracteristicile generale pentru speciile de *Lilium* sunt următoarele:

- plantele sunt erbacee, perene, bulbifere;
- bulbii sunt constituiți din scvame, alăturate una lângă alta;
- florile conțin șase petale, șase stamine și ovar triocular;
- frunzele sunt alungite, cu nervațiune paralelă.

Lilium henryi Baker are bulbii cu diametrul mediu de circa 8-12 cm, iar înălțimea – de 7-10 cm. Scvamele bulbului sunt cărnoase, dispuse imbricat. Scvama are baza mult lătită și vârful ascuțit, de forma unui triunghi încovoiat dorsoventral, este higroscopică, fără miros și cu gust amar.

La *Lilium martagon L.* bulbul este alungit compact de culoare galbenă. Scvamele bulbului sunt înguste, alungite, atingând în medie circa 2,7 cm și în lățime – 0,7cm. Scvamele sunt segmentate având în partea bazală un segment care se deosebește de restul scvamei printr-o gătuitoră, este încovoiată de la bază spre vârf, fiind concavă ventral și convexă dorsal, iar marginile fiind subțiate până la străveziu. Scvamele sunt higroscopice, fără miros, gustul este amar.

Lilium regale Wills are bulbi roșietici, compuși din scvame cărnoase, dispuse imbricat. Diametrul mediu al bulbului este de circa 7-10 cm, iar înălțimea – de 5-7 cm. Scvamele sunt higroscopice, fără miros, cu gust amar neplăcut.

Analizând rezultatele investigațiilor privind anatomia epidermei frunzei și a scvamei la speciile *Lilium martagon*, *L. henryi* și *L. regale* s-au evidențiat următoarele particularități specifice care pot fi utilizate ca caractere diagnostice anatomice ale speciilor în cauză:

- frunzele speciei *Lilium martagon* au structura anatomică epistomatică;
- forma celulelor epidermale la speciile de *Lilium henryi* și *L. regale* supuse investigației este prozenchimatică, iar la *L. martagon* – parchimatică alungită;

- celulele epidermei superioare se deosebesc esențial după forma pereților: la crinul regal pereții în lungimea celulelor sunt liniari-drepecți, la crinul *Henri* sunt uniform slab ondulați, la crinul de pădure sunt ondulați neuniform cu amplitudinea mare, care ajunge până la o treime din lățimea celulei. Celulele epidermei inferioare a frunzei au forma asemănătoare cu celulele epidermei superioare la crinul regal;
- la toate speciile supuse investigației, pe epiderma inferioară a frunzei, de rând cu celulele epidermale sunt și cele stomate care, după forma și numărul pe unitatea de suprafață, au caractere specifice: sunt rare, de formă rotunjită, ostiola – închisă, stomatele de tip paracitic;
- celulele epidermale de pe scvamele (solzii) bulbilor se deosebesc esențial de celulele epidermei frunzelor atât prin structura omogenă a mezofilului, după dimensiuni, cât și prin forma pereților, care sunt drepecți la speciile supuse investigației;
- particularitățile morfoanatomice ale epidermei la speciile *Lilium martagon*, *L. henryi* și *L. regale* pot fi folosite cu succes ca caractere sistematice.

Caracterele diagnostice fitochimice

În scopul identificării posibilelor caractere diagnostice fitochimice, speciile investigate au fost testate la conținutul mai multor clase de substanțe biologice active [39]. Rezultatele obținute după o serie de precizări efectuate ulterior sunt prezentate în tabelul 1.

Analizând tabelul 1 s-a constatat că la speciile *Asparagus* și *Lilium*, organele subterane conțin un procent mai mare de saponine în fazele de repaus și la sfârșitul vegetației, iar în faza fructificării conținutul de saponine este mai mic. Părțile aeriene la speciile *Asparagus* și frunzele de *Lilium* conțin mai multe saponine în timpul înfloririi și mai puține la sfârșitul vegetației. Această concluzie stă la baza determinării fazei de colectare/recoltare a materialului vegetal pentru obținerea PV. Produsele vegetale obținute din părțile subterane trebuie recoltate/colectate în faza de repaus, iar cele obținute din partea aeriană – în perioada înfloririi. Cele mai bogate PV în saponine (în perioada de acumulare maximă a saponinelor) sunt rizomii și rădăcinile de *Asparagus* (cca 4% din masa absolută uscată) și bulbii de *Lilium henryi Baker* (1,4–1,7%). Totodată, trebuie de luat în considerație că conținutul relativ mai mic de saponine al bulbilor de *Lilium henryi* este compensat de prezența flavonoidelor și a taninurilor. O asemenea compoziție, prin analogie, conduce la ipoteza că și acest produs vegetal poate fi o materie primă foarte importantă pentru produse farmaceutice, cu diverse proprietăți terapeutice, și poate servi ca punct de plecare pentru elaborarea și implementarea unor noi PVM farmaceutice. Sub alt aspect, conținutul fitochimic determinat în prezenta lucrare al PV studiate poate servi și ca caracter diagnostic fitochimic pentru:

1. Rizomii și rădăcinile de *Asparagus verticillatus* – saponine, alcaloizi, cumarine, substanțe tanante, mucilagii.
2. Rizomii și rădăcinile de *Asparagus tenuifolius* – saponine, alcaloizi, cumarine, mucilagii.

- Părțile aeriene de *Asparagus verticillatus* – saponine, alcaloizi, substanțe tanante hidrolizabile, flavonozide, cumarine și mucilagii.
- Părțile aeriene de *Asparagus tenuifolius* – saponine, alcaloizi, flavonozide, cumarine și mucilagii.
- Bulbii și frunzele speciilor *Lilium* – saponine, alcaloizi, substanțe tanante hidrolizabile, flavonozide, cumarine și mucilagii.
- Părțile aeriene, rizomii și rădăcinile de *Asparagus verticillatus* se deosebesc de părțile aeriene, rizomii și rădăcinile de *Asparagus tenuifolius* prin prezența substanțelor tanante.

Astfel, prezența substanțelor tanante poate fi utilizată cu semnificație diagnostică fitochimică pentru a deosebi părțile aeriene, rizomii și rădăcinile de *A. verticillatus* de cele ale speciei producătoare *A. tenuifolius*. În ceea ce privește identificarea fitochimică a bulbilor și a frunzelor speciilor.

Lilium, aceasta este imposibilă datorită conținutului calitativ fitochimic similar.

Datorită faptului că, în cadrul cercetărilor fitochimice s-au consolidat premisele elaborării unor produse vegetale noi cu conținut de saponine în continuarea cercetării, în special a aspectului aplicativ, s-a mai introdus un obiect vegetal caracterizat de noi anterior ca bogat în saponine - *Asparagus officinalis* L. [44].

Pornind de la datele referitoare la conținutul de glicozide saponinice în organele speciilor *Asparagus* și *Lilium* examinate [39, 45, 48] s-a constatat că organele subterane ale acestora conțin un procent sporit de saponine în fazele de repaus și la sfârșitul vegetației și un procent mai redus în faza fructificării. Părțile aeriene ale acestor specii conțin o cantitate mai mare de saponine în timpul înfloririi, cantitate care scade spre sfârșitul vegetației. Cel mai bogat în saponine produs vegetal s-au dovedit a fi rizomii cu rădăcinile de sparanghel medicinal (*Asparaginis officinalis rhizomata cum radicibus*).

Este cunoscut faptul că saponinele steroidice izolate au o stabilitate relativ mare la factorii fizici (lumină, temperatură, umiditate) și chimici (degradează în soluție de acid sulfuric de 1-2% numai după menținerea la temperatura de 100°C timp de câteva ore), însă sunt vulnerabile la mediul microbiologic, în special față de mai multe ciuperci. De aici și problema păstrării produselor vegetale cu conținut de saponine steroidice, luând în calcul rolul mare care îl au procesele biochimice endogene care pot decurge în cazul umidității supranormă și impactul microbiologic exogen care, de asemenea, depinde mult de condițiile de păstrare. Acestea și alte premise au impulsat cercetarea termenului posibil de valabilitate a produsului *Asparaginis officinalis rhizomata cum radicibus* după criteriul conținutului de saponine. S-au examinat 6 serii de produs vegetal cu termene de păstrare de la 3 până la 27 luni (tab. 2).

Tabelul 1

Aprecierea fitochimică a unor specii din familiile *Asparagaceae* și *Liliaceae*

Speciile, produsele vegetale	Grupul de compuși chimici	Saponine				Alcaloizi				Substanțe tanante			Heterozide cardiotonice				Flavonozide	Antrachinone	Cumarine	Mucilagii					
		Reacția de formare a spumei	Reacția Liebermann-Bourchard	Reactivul Sannie	Reactivul Ehrlich	Reactivul Dragendorff	Reactivul Bouchardat	Soluția de tanină	Soluția acidului fosfomolibdenic	Soluția acidului siliciowolframic	Soluția alauni fieroamoniacală 1 %	Soluție gelatină 1%	Soluție apă de brom 5%	Cu NaNO ₂ și HCl de 0, 1M	Reacția Keller-Killiani	Reacția Liebermann-Bourchard	Reacția Rosenheim	Reacția Legal	Reacția cu sol. de acetat de plumb bazic	Proba cianidică	Sublimarea derivaților antracenului	Reacția cu bază	Azoreacția	Proba lactonică	Reacția sedimentării mucilagiilor în alcool etilic 96%
<i>A. tenuifolius</i> <i>A. verticillatus</i> rizomi și rădăcini		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>A. tenuifolius</i> <i>A. verticillatus</i> părți aeriene		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
<i>L. henryi</i> <i>L. regale</i> <i>L. martagon</i> bulbi		+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
<i>L. henryi</i> <i>L. regale</i> <i>L. martagon</i> frunze		+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+

Notă: + - reacția pozitivă; - - reacția negativă.

Tabelul 2

Termenele de colectare, condițiile și termenele de păstrare, de control a probelor experimentale de produs vegetal *Asparaginis officinalis rhizomata cum radicibus*

Seria	Fabricatul	Conservarea la temperatura camerei (15°-25° C, ferit de umiditate) /luni
001	August 2007	3 luni
002	August 2007	3 luni
003	August 2007	3 luni
004	August 2005	27 luni
005	August 2005	27 luni
006	August 2005	27 luni

Conținutul determinat de saponine în aceste serii demonstrează că, pe parcursul a doi ani și trei luni, acesta s-a menținut în limitele greșelii experimentului (tab. 3).

Tabelul 3

Dinamica conținutului de saponine în produsul vegetal *Rizomi cu rădăcini de sparanghel medicinal pe parcursul păstrării timp de 27 de luni*

Seria	Proba nr. 1	Proba nr. 2	Proba nr. 3
Seria 001	5,20%	5,33%	5,25%
Seria 002	5,11%	5,08%	5,15%
Seria 003	5,13%	5,15%	5,15%
Seria 004	6,12%	6,14%	6,16%
Seria 005	4,96%	4,85%	4,90%
Seria 006	4,59% 4,63%	4,64% 4,66%	4,60% 4,68%

1. peri absorbanti
2. rizodermă
3. exodermă
4. celule cu saponine
5. parte internă a scoarței primare
6. endodermă
7. liber
8. protoxilem
9. metaxilem
10. măduvă
11. pericicl

Pentru evaluarea reproductibilității, s-au luat în calcul rezultatele dozării obținute pentru seria 006, efectuate în două zile diferite.

Descrierea farmacognostică și dozarea principiului activ al produsului vegetal *Rizomi cu rădăcini de sparanghel medicinal (Asparaginis officinalis rhizomata cum radicibus)*

În rezultatul examinărilor experimentale, multiplu repetate, au fost elaborate descrierea produsului vegetal *Rizomi cu rădăcini de sparanghel medicinal* în baza caracterelor diagnostice macroscopice, anatomice, fitochimice și metoda de dozare a principiului activ – saponinele furostanolice. În elaborarea descrierii și a metodei de dozare ne-am condus de prevederile FS ed. XI, Farmacopeii Europene, prevederilor unor STAS-uri, astfel încât rezultatele să poată fi lejer utilizate pentru elaborarea monografiei farmaceutice temporare (MFT). Conform cerințelor înaintate de Farmacopee față de produsul vegetal, studiul a inclus următorii indici de calitate și parametri de conformitate:

Aspectul exterior și caracterele organoleptice. După aspectul exterior produsul medicinal vegetal prezintă rizomi sub formă de fragmente neregulate, cu lungimea de până la 8 cm și cu grosimea de până la 1,5 cm, și rădăcini filiform – alungite cu suprafața încrețită de diferită lungime, până la 5 mm în grosime. Culoarea lor externă este cafeniu – închisă, iar cea internă – brun-deschisă. Rizomii și rădăcinile nu au un miros specific și au un gust amar-dulciu.

Caractere diagnostice anatomice. Pentru identificarea produsului vegetal în baza caracterelor microscopice s-a examinat secțiunea transversală prin rădăcină, care are structura anatomică primară (fig. 1).

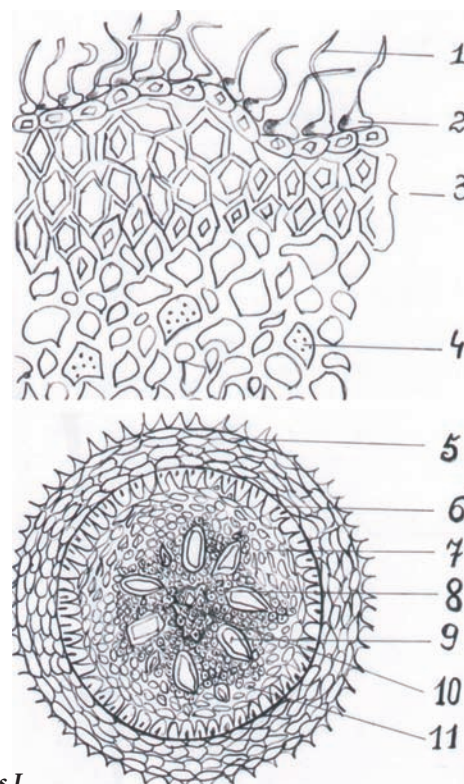


Fig. 1. Secțiune transversală a rădăcinii de *Asparagus officinalis L.*

La periferie rădăcina este acoperită de rizodermă cu mulți peri absorbantți. Celulele rizodermei, cât și perii au pereți celulozici, subțiri și conținut viu. Cu timpul sub rizodermă apare exoderma, țesut din 5-6 rânduri de celule, dens distribuite, fără spații aeriene, cu pereții îngroșați și parțial suberinizati, cu funcția de protecție. Urmează apoi un strat din mai multe rânduri de celule parenchimatice dispuse afănat, limitate spre centru de un rând de celule mai avansate în dimensiuni, bogate în granule de amidon, care formează endoderma. Endoderma limitează scoarța primară de partea centrală, numită cilindru central.

În parenchimul scoarței primare se conțin celule răzlețe cu cavitatea umplută cu saponine furostanolice – reacția pozitivă cu reactivul *Ehrlich* (colorație roz), iar saponinele spirostanolice – cu reactivul *Sannie* (colorația oranj).

Cilindrul central începe cu un strat de celule vii, foarte fine, care prezintă periciclul – țesut formativ primar. În cilindrul central sunt fascicule xilemice și floemice (tuburi ciuruite), care alcătuiesc fascicule liberolemmoase, de tip radier.

Fasciculul liberolemnos este în formă de triunghi cu vârful orientat spre periferia secțiunii. În centrul rădăcinii este un țesut parenchimatic cu celule moarte cu pereții celulozici. În celulele măduvei se depun în rezervă substanțe organice.

Dozarea principiului activ. Pentru dozarea principiului activ a fost elaborată metoda spectrofotometrică bazată pe absorbția la lungimea de undă de 519 nm, caracteristică produsului colorat dintre saponinele furostanolice și reactivul *Ehrlich*, care se obține în condițiile experimental stabilite.

Validarea metodei de dozare propusă (MFT MD-08/0932-12.07) s-a efectuat în baza următorilor parametri:

- specificitatea;
- precizia;
- linearitatea.

Specificitatea. În scopul determinării specificității metodei elaborate și propuse de dozare a glicozidelor furostanolice, prin spectrofotometria de absorbție în ultraviolet, s-a înregistrat absorbanta la 519 nm pentru:

- soluția martor;
- soluția probă;
- soluția standard de asparagozidă H – compusul principal al sumei glicozidelor furostanolice ale produsului *Rizomi cu rădăcini de sparanghel medicinal*.

Precizie. Parametrul „Precizie” a fost evaluat în termeni de repetabilitate și de reproductibilitate.

Testul a fost efectuat pe 3 probe, precizat după testul „Dozare”, prin metoda spectrofotometrică. Repetabilitatea a fost evaluată prin deviația standard (s) și prin deviația relativă standard (RSD).

Linearitatea. Conform datelor spectrofotometrice linearitatea metodei se păstrează minim în intervalul de concentrații 1-35 mg/ml.

Din analiza datelor obținute rezultă că:

- determinarea spectrofotometrică se efectuează în maximumul de absorbție la lungimea de undă 519 nm. Maximumul de absorbție se păstrează pe parcursul efectuării

testului „Dozare”;

- reactivii și solvenții folosiți pentru testul „Dozare” nu influențează semnificativ valoarea absorbantei a soluției
- proba la lungimea de undă 519 nm.

Obținerea produsului farmaceutic *Asparagozidă din produsul vegetal Rizomi cu rădăcini de sparanghel medicinal*

Produsul farmaceutic *Asparagozidă* a fost obținut din produsul vegetal *Rizomi cu rădăcini de sparanghel medicinal* după metoda de obținere a preparatelor extractive alcoolo-apoaze ținând cont de rigorile farmacopeice față de produsul farmaceutic. Produsul farmaceutic *Asparagozidă* constă din totalul saponinelor spirostanolice și furostanolice ale sarsapogenolului [(25S)-5β-spirostan-3β-ol] și a analogului său furostanolic [(25S)-5β-furostan-3β, 22β, 26-triol] descrise anterior [44].

În calitate de substanță standard a fost utilizată glicozida furostanolică individuală asparagozida H, izolată din preparatul sumar examinat și care este: →3-O-[-β-D-xilopiranozil (1→4)β-D-glucopiranozil (1→4)]-[-β-D-glucopiranozil (1→3)]-β-D-glucopiranozil-I]-26-O-[-β-D-glucopiranozil]-(25S)-5β-furostan-3β, 22α, 26-triol [44].

Conform cerințelor înaintate față de produsul farmaceutic, au fost studiați următorii indici de calitate și parametri de conformitate: descriere, identificare, reziduul prin uscare, reziduul prin calcinare, dozare, termen de valabilitate.

Descrierea. După aspectul exterior produsul farmaceutic prezintă: pulbere amorfă de culoare de la galbenă până la cafeniu-deschisă, cu inserări mai închise și mai deschise, cu miros slab specific și cu gust amar.

Identificarea produsului. Identificarea produsului farmaceutic poate fi constatată prin reacții calitative și cromatografia în strat subțire.

Ca reacții de identificare s-au utilizat capacitatea soluțiilor de asparagozidă de a forma o spumă stabilă la agitare, reacția pentru ciclul steroidic cu soluția acidului sulfuric în anhidridă acetică și reacția cu reactivul *Ehrlich*.

Reactivul *Ehrlich* cu un conținut mic de clorură de hidrogen poate fi utilizat și pentru depistarea heterozidelor furostanolice pe cromatogramele în strat subțire.

Pierderea prin uscare. Acest indice a fost examinat în corespundere cu metodologia FS ed.XI, v.1, p. 176 și s-a constatat, în urma analizei unei serii de probe, că pierderea prin uscare variază între 5,5-5,8%.

Reziduul prin calcinare. Acest indice a fost examinat în corespundere cu metodologia FS ed.XI, v.1, p. 176 și s-a constatat, în urma analizei unei serii de probe, că reziduul prin calcinare variază între 4,4-4,9%.

Dozarea. Reacția colorată cu reactivul *Ehrlich*, respectând unele condiții, a fost efectiv utilizată pentru dozare. Absorbția complexului colorat este proporțională concentrației asparagozidei în probă cu maximumul de absorbție, la lungimea de undă 519±2 nm.

Validarea metodei de dozare s-a efectuat, similar cazului pentru produsul vegetal *Rizomi cu rădăcini de sparanghel*

medicinal, ținând cont de caracteristicile de specificitate, precizie, linearitate (MFT MD - 08/0939 - 01. 08.).

Activitatea antiradicală a produsului farmaceutic Asparagozidă

Totalul glicozidic (preparatul *Asparagozidă*) și asparagozida H, izolați din *Asparagus officinalis L.* au fost investigați la Institutul de Genetică și Fiziologie a plantelor al AȘM pentru testarea activității antiradicalice.

Pentru cercetarea activității antiradicalice a totalului glicozidic (substanța-test) și asparagozidei H (substanța-standard) s-a aplicat metoda potențiometrică de determinare *in vitro* a capacității antioxidante (de captare a radicalilor luberi) descrisă de Sano M. [36] și coautorii, cu modificările Ivanova R. [37].

S-a stabilit că activitatea antiradicală a substanțelor cercetate este liniar dependentă de concentrația cu o aproximație înaltă ($r^2 = 0,9673-0,9998$), în diapazonul 2,5-5,8 mg/ml și 0,2-1,1 mg/ml, respectiv pentru standard și substanța-test (fig. 2, 3). S-a calculat indice IC_{50} - concentrația inhibitoare pentru 50% din radicalii liberi. IC_{50} a substanței standard este egală cu $4,30 \pm 0,14$ mg/ml. În comparație cu standardul, substanța-test (*Asparagozidă*) a manifestat activitatea antiradicală de 5.5 ori mai mare, $IC_{50} = 0,78 \pm 0,01$ mg/ml (fig. 4).

Concluzii

1. Au fost identificate și descrise farmacognostic (caracterele anatomice, morfologice și fitochimice) ca produse vegetale medicinale cu conținut de saponine steroidice ca principiu activ cinci produse: rizomii, rădăcinile și părțile aeriene de la speciile de *Asparagus*, bulbii și frunzele de la speciile *Lilium*.

2. În rezultatul studiului farmacognostic și fitochimic au fost obținute, descrise, stabilite valorile indicilor de calitate și standardizate produsul vegetal medicinal *Sparanghel medicinal: rizomi cu rădăcini* (MFT MD - 08/0932 - 12.07) și produsul farmaceutic *Asparagozidă* (MFT MD - 08/0939 - 01.08).

3. S-a constatat activitatea antiradicală a totalului saponinic (*Asparagozidă*) din produsul vegetal medicinal *Sparanghel medicinal: rizomi cu rădăcini*. Concentrația inhibitoare pentru 50% din radicalii liberi ai produsului testat (*Asparagozidă*) este de 5,5 ori mai mică, în comparație cu standardul, ceea ce înseamnă o activitate antiradicală de peste cinci ori mai înaltă.

Bibliografie

- Кинтя П. К., Лазурьевский Г. В., Балашова Н. Н. и др. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана. Кишинев, «Штиинца», 1987, 142 с.
- Ботанико-фармацевтический словарь. Под ред. К. Ф. Блиновой и Г. П. Яковлева. Из-во «Высшая школа», Москва, 1990, с. 185, 263.
- Кемертелидзе Э. П. и др. Трибуспонин антисклеротическое средство. А. С. N 567449, Товарные знаки, 1977, 54 (29) 10.
- Лекарственные растения СССР. Культивируемые и дикорастающие растения. Из-во «Планета», Москва, 1988, с. 186-187.
- Лесков А. И., Мартынова Р. Г., Соколов С. Я. Полиспонин новый лечебный препарат антисклеротического действия. Хим. фарм. журнал, 1976, № 1, с. 147-150.
- Ловкова М. Я., Рабинович А. М. и др. Почему растения лечат? Из-во «Наука», Москва, 1989, с. 60-61.
- Соколов С. Я., Замотаев И. П. Справочник по лекарственным

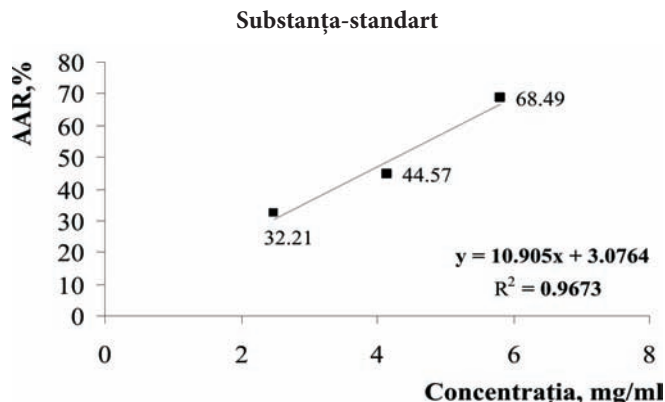


Fig. 2. Dependenta activității antiradicalice de concentrația substanței-standard.

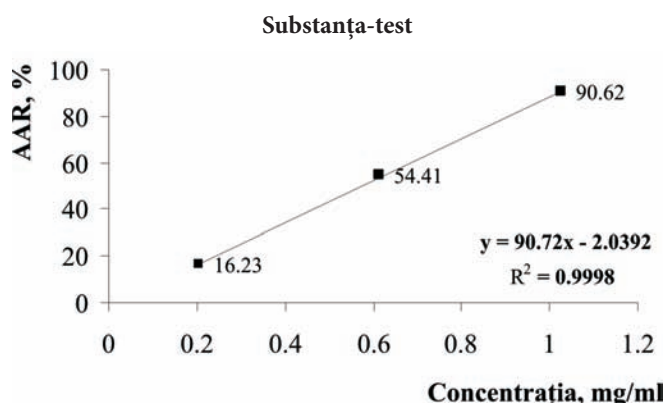


Fig. 3. Dependenta activității antiradicalice de concentrația substanței-test.

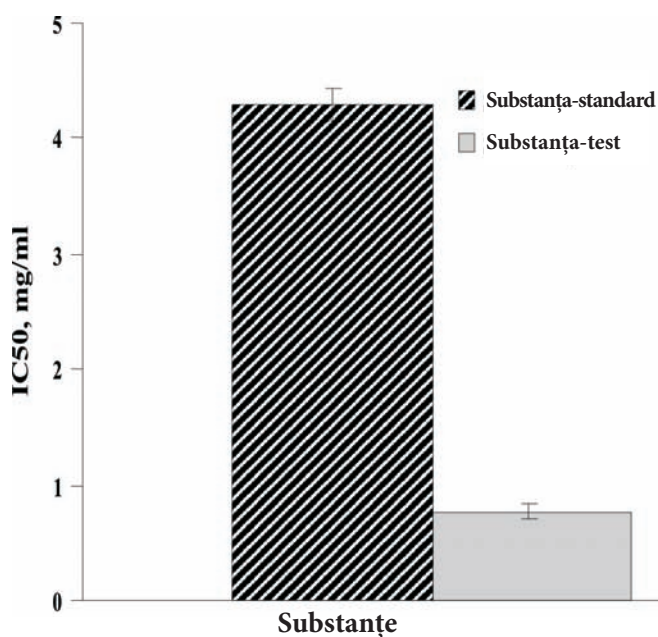


Fig. 4. Concentrația inhibitoare pentru 50% din radicalii liberi - IC_{50} ai substanțelor cercetate.

- растениям. „Медицина”, М., 1984, с. 111-113, 115-116.
8. Matcovschi C., Procopișin V., Parii B. Ghid farmacoterapeutic. Chișinău, 2006, 1424p.
 9. Регуляторы роста растений. Защита растений, 1991, № 9, с. 56.
 10. Список химических и биологических средств борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками, регуляторов роста растений и феромонов, разрешенных для применения в сельском хозяйстве, в том числе фермерском, лесном и коммунальном хозяйствах на 1992 – 1996 г. Защита растений, 1993, № 3, с. 52-53; № 4, с. 77.
 11. Список химических и биологических средств защиты растений и регуляторов роста, разрешенных для применения в сельском и лесном хозяйстве Республики Молдова. Кишинев, «Штиинца», 1994, 384 с.
 12. Средства защиты растений: дефолианты и регуляторы роста. Защита растений. 1992, № 4, с. 41-46.
 13. Ikeda T., Tsumagari H., Honbu T. et al Cytotoxic Activity of steroidal glycosides from Solanum plants. Biol. Pharm. Bull., 2003: 26: 8: 1198-1201.
 14. Neychev V. K., Nicolova E., Zhelev N., Mitev V. I. Saponins from Tribulus terrestris L. Are Less Toxic for Normal Human Fibroblasts than for Many Cancer Lines: Influence on Apoptosis and Proliferation. Experimental Biology and Medicine, 2007; V. 232, p. 126-133.
 15. Petit G. R., Doubek D. L., Herald D. T. et al. Izolation and structure of cytostatic steroidal saponins from the African medicinal plant Balanites aegyptiaca. J. Nat. Prod., 1991; V. 54, p. 1491-1502.
 16. Reddy K. S., Shekhani M. S., Berry D. E. et al. Afrumontoside. A new cytotoxic principle from Dracaena afromontana. J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1984; V. 1, p. 987-992.
 17. Берсукер И. Б. и др. Структурные признаки противоопухолевой активности стероидных гликозидов. В сб. Химиотерапия опухолей в СССР. 1982: 36: с. 153-156.
 18. Горяну Г. М., Нистрян А. К. Стероидные гликозиды из спаржи лекарственной и их биологическая активность. В сб. «Наука фармацевтической практике». Из-во «Штиинца», Кишинев, 1984, с. 38-39.
 19. Кинтя П. К., Бобейко В. А., Машенко Н. Е., Смирнова З. С., Пухальская Е. Ч. Строение модифицированных стероидных гликозидов и их противоопухолевая активность. Химиотерапия опухолей в СССР. 1980, 31, с. 214-219.
 20. Пухальская Е. Ч., Гусева А. П., Пасешниченко В. А., Смирнова З. С. Противоопухолевая активность стероидных сапонинов растений диоскореи. Всесоюзное совещание Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей, Чернооголовка, 1980, Т. 1, с. 215-217.
 21. Goreanu Gh. Proprietatea antioxidantă a triozidei 3-O-[α -L-Rhap (1 \rightarrow 2)]-O-[β -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)]-O-[β -D-Glcp-izonartogenina-(25R)-spirost-5-en-3 β , 27-diol-27-O-(3-hidroxi-3-metilglutaroil) din Liliun henryi Baker. Analele științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria Științe chimico-biologice. Chișinău, 2000, p. 174-175.
 22. Кинтя П. К., Бурцева С. А. и др. Поиск антиоксидантов в ряду стероидных гликозидов. Хим. фарм. журнал, 1982, № 1, с. 95-97.
 23. Кинтя П. К., Швец С. А., Наук В. А. Строение и антиоксидантная активность мелонгозида Q. Тезисы II Всесоюзной конференции «Биоантиоксидант». Чернооголовка, 1986, Т. 1, с. 7-8.
 24. Goreanu Gh. Proprietatea antioxidantivă a asparagozidei H: 3-O-[β -D-Xylp(1 \rightarrow 4)]-O-[β -D-Glcp(1 \rightarrow 4)]-O-[β -D-Glcp(1 \rightarrow 3)]-O-[β -D-Glcp-1]-26-O-[β -D-Glcp]-25S)-furost-5 β ,3 β ,22 α ,26-triol din Asparagus officinalis L. Curier medical, Chișinău, 2002, Nr. 2, p. 25-27.
 25. Горяну Г. М., Василенко Ю. К., Кинтя П. К., Суетина И. В. Гликозиды сарсапегенина обладающие гипохолестеринемическим действием. III Всесоюзный съезд фармацевтов (Тезисы докладов). Из-во «Тимпул», Кишинев, 1980, с. 210.
 26. Кинтя П. К., Василенко Ю. К., Бобейко В. А., Суетина И. В., Машенко Н. Е., Горяну Г. М. Поиск гипохолестеринемических средств в ряду стероидных гликозидов. Химико-фармацевтический журнал. Из-во «Медицина», Москва, 1981, № 9, с. 55-60.
 27. Goreanu Gh., Chintea P., Lupașcu G., Fandeev E. Acțiunea inhibitorie a glicozidelor spirostanolice (lilioninelor) din Liliun henryi Baker asupra ciupercilor Fusarium.// Revista farmaceutică a Moldovei. - 2004.-N 1.-P. 34-36.
 28. Lunga I., Kintea P., Shvets S., Favel A. and Pizza C. Steroidal glycosides from the seeds of Hyoscyamus niger L. and their antifungal activity. Chemistry journal of Moldova.-2007.-V.2.-№1.-P.108-113.
 29. Sphimoyamada M., Suzuki M. et all. Antifungal activity of the saponin fraction obtained from Asparagus officinalis L. and its active principle.// Agric. Biol.Chem.- 1990.- V. 54.- P. 2553-2557.
 30. Кинтя П.К., Лупашку Г.А., Сашков Е.Ф., Гавзер С.И. Влияние стероидных гликозидов на устойчивость сои к фузариозной корневой гнили. VII Международный симпозиум (Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования), Пуццино.-2007.Т. 2.-С. 181 – 183.
 31. Лазурьевский Г. В., Жученко А. А., Кинтя П. К., Балашова Н. Н., Машенко Н. Е., Бобейко В. А., Пара С. П., Горяну Г. М. Действие стероидных гликозидов на Phytophthora infestans (Mont) Bary.// Доклады АН СССР, серия биохимии.- 1978.- Т. 243.- С. 1076-1078.
 32. Лупашку Г.А., Кинтя П.К., Сашков Е.Ф., Гавзер С.И. Влияние стероидных гликозидов на устойчивость твердой пшеницы к фузариозной корневой гнили. VII Международный симпозиум (Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования), Пуццино.-2007.Т. 2.-С. 231 – 237.
 33. Grigorescu Emanuil, Lazăr Mihai Ioan, Stănescu Ursula Helena, Ciulea Ioan. Index fitoterapeutic. Iași.- 2001.- P.65.
 34. Энциклопедия народной медицины.// АНС., М.- 1993.- Т. 2.- С. 71.
 35. Tscheche R., Wulff G. Chemie und Biologie der Saponine// Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe. -1973. Bd. 30. -S. 461-606.
 36. Sano M., Yoshida R., Degawa M., Miyase T., Yoshino K. Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator. // J.Agric. Food Chem.-2003.-Vol.-51.-№10.-P.2912 – 2916.
 37. Ivanova R. Evaluarea activității antiradicale in vitro a bioantioxidanților prin metoda potențiomtrică. //Materialele conferinței științifico-practice „Ziua medicamentului la INF. Medicamentul de la idee la farmacie”. -Chișinău.-2004.-P. 76 – 81.
 38. Лупушор А. В., Горяну Г. М. и др. Анатомическое строение спаржи лекарственной. Систематика, экология и физиология растений.// Вопросы биологии и охраны природы. Межвузовский сборник. Из-во «Штиинца», Кишинев.- 1979.- С. 64-68.
 39. Goreanu Gh. Contribuții la studiul farmacognostic al unor specii din familiile Asparagaceae și Liliaceae. Buletinul Institutului Național de Farmacie. Chișinău. -2002.- P. 29-60.
 40. Goreanu Gh.. Cercetări biologice în vederea valorificării unor specii din familiile Asparagaceae și Liliaceae. Recomandări metodice pentru farmaciști și biologi. Chișinău.-2003.- P.49.
 41. Goreanu Gh. Aspecte morfoanatomice ale frunzei și scvamei crinului Henri (Lilium henryi Baker). Revista farmaceutică a Moldovei.- 1996.- P. 39-42.
 42. Goreanu Gh. Aspecte morfoanatomice ale frunzei și scvamei crinului de pădure.// Revista farmaceutică a Moldovei.- 1998.- N 1- 2.- P. 18-19.
 43. Goreanu Gh. Aspecte anatomo-morfologice ale frunzei și scvamei la crinul regal (Lilium regale Wils).// Revista farmaceutică a Moldovei.- 1999.- N 1-4.- P. 12-13.
 44. Лазурьевский Г. В., Горяну Г. М., Кинтя П. К. Стероидные гликозиды из Asparagus officinalis.// Доклады АН СССР.- 1976.- Т. 231.- С. 1479-1481.
 45. Goreanu Gh., Chintea. P. Structura chimică a lilioglicozidelor A și B izolate din bulbiililium regale Wils. Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. „Probleme medico-biologice, farmaceutice și management”. Ed.IV. Chișinău.-2003.-V.1.-P.266-270.
 46. Goreanu Gh. Structura chimică a lilioninelor I și K izolate din bulbiililium henryi Baker. Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. „Probleme medico-biologice, farmaceutice, de sănătate publică și management”. Ediția V. Chișinău.-2004.-V.1.-P. 305-311.
 47. Goreanu Gh. Glicozidele steroidice izolate din rizomii și rădăcinele Asparagus tenuifolius Lam. Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. „Probleme medico-biologice și farmaceutice.” Ediția VI. Chișinău.-2005.-V.1.-P. 442-444.
 48. Goreanu Gh. Glicozidele diosgenolului izolate din bulbiililium henryi Baker. Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Probleme medico-biologice și farmaceutice, Chișinău.-16 – 19 octombrie. -2007.-V.2.-P.269 – 271.

Gheorghe Goreanu, dr. în farm., conferențiar
Catedra Farmacognozie și Botanică farmaceutică
USMF „Nicolae Testemițanu”
Chișinău, str. Malina Mică, 66
Tel.: 205447

Recepționat 18.06.2009