

Etapa II/2008

Perioada de executie 01.01.2008- 30.06.2008

Valoarea etapei: 567.500 lei

din care 37.500 lei din Cofinantare

Documente: - Raport intermediar de activitate

Obiectivul etapei II/2008

Investigatii fitochimice calitative si cantitative a speciilor *Allium ursinum* si *Sorbus aucuparia*

Activitatile etapei a II-a/2008

Activitate II. 1 Investigarea compozitiei chimice pentru speciile de *Sorbus aucuparia* si *Allium ursinum*

Activitate II.2 Studiu de laborator pentru determinarea conditiilor optime de extractie a polizaharidelor, a compusilor cu sulf si a compusilor polifenolici

Activitate II.3 Obtinerea fractiunilor extractive la faza de laborator

Activitate II.4. Caracterizarea fizico-chimica, microbiologica si fitobiologica (citogenitate, citotoxicitate) a fractiunilor extractive; diseminarea rezultatelor

REZUMAT

In studiul de fata, cercetarile se axeaza pe o valorificare superioara a *Allium ursinum*, in sensul ca se apreciaza potentialul sintetic al compusilor chimici antioxidanti – polifenoli si flavone. Pentru caracterizarea morfobiochimica a materiei prime vegetale s-au evaluat mai multe populatii naturale de *Allium ursinum*, in vederea selectiei acelora care corespund caracterelor de bioproductivitate, biomasa + compozitie biochimica.

La ora actuala materia prima este furnizata de materialul vegetal recoltat din flora spontana. Pe viitor ar trebui sa se treaca la cultura conventionala (de camp) pentru a nu se epuiza bazinele naturale si a avea control asupra potentialului biosintetic al materiei vegetale utilizate la procesare. Exista riscul ca prelevarea materialului sub forma de bulbi sau sub forma plantei in florite sa duca la imposibilitatea multiplicarii vegetative (pe cale naturala) a speciei *Allium ursinum*. Investigarea populatiilor naturale este necesara si datorita faptului ca potentialul biosintetic poate fi influentat de conditiile pedoclimatice din zona/arealul de prelevare a plantelor, astfel procesatorul nu poate avea pe o perioada mai mare de timp aceeasi materie prima, cu aceleasi insusiri biochimice. Studiu intreprins de noi are in vedere evaluarea populationala sub aspect morfologic si biochimic al plantelor de *Allium ursinum* potential utilizabile in obtinerea de fitopreparate administrabile in afectiuni cardiovasculare. Gasirea celor mai bune metode extractive este un deziderat in vederea conservarii principiilor cu actiune antioxidanta, mai ales ca este necesara prelucrarea materiei prime in stare proaspata.

Pentru a determina conditiile optime de extractie ale principiilor active antioxidante (derivati flavonoidici, compusi polifenolici, compusi sulfurati) din cele doua produse vegetale luate in studiu, acestea au fost extrase cu solventi de polaritati diferite: etanol absolut si amestecuri hidroetanolicе de concentratii diferite (70° , 50° , 30°). Pentru extractele din *Allii ursini herba* a fost determinat continutul in flavonoide, polifenoli si compusi cu sulf in timp ce pentru extractele din *Sorbi aucupariae fructus* a fost determinat continutul in flavonoide si polifenoli.

Studiul chimic cantitativ efectuat a evidentiat faptul ca:

- in cazul produsului *Allii ursini herba*, extractele in etanol absolut si etanol 70° contin peste 8 mg flavonoide la 100 ml in timp ce in extractele obtinute cu etanol 50° si etanol 30° continutul in flavonoide este de 3,29 si respectiv, 2,25 mg la 100 ml extract; extractul in etanol 50° s-a dovedit a fi cel mai bogat in polifenoli (25,22 mg polifenoli la 100 ml extract). Trebuie remarcat faptul ca in celelalte extracte (obtinute cu etanol absolut, etanol 70° si etanol 30°) continutul in polifenoli este, de asemenea, ridicat variind intre 21,17 – 23,62 mg la 100 ml. Pentru compusii sulfurati solventul de electie s-a dovedit a fi etanolul 70° (11,33 mg ioni sulfat la 100 ml extract).

- in cazul produsului *Sorbi aucupariae fructus*, solventul de electie pentru flavonoide il reprezinta etanolul absolut (4,55 mg flavonoide la 100 ml extract) in timp ce in extractele hidroetanolicе obtinute cu etanol de 70°, 50° si 30° continutul in flavonoide nu depaseste 1,7 mg la 100 ml extract; extractele in etanol 30° si etanol 50° s-au dovedit a fi mai bogate in polifenoli (20,18 si respectiv, 18,13 mg polifenoli la 100 ml extract) decat extractele obtinute cu etanol 70° si etanol absolut (11,34 si respectiv, 8,93 mg la 100 ml extract).

In concluzie, se poate aprecia faptul ca, in cazul produsului *Allii ursini herba*, pentru obtinerea unui extract bogat in principii antioxidante (flavonoide, polifenoli, compusi cu sulf) se recomanda folosirea etanolul 70° ca solvent de extractie.

Pentru *Sorbi aucupariae fructus*, etanolul absolut este solventul de electie pentru flavonoide in timp ce etanolul 30° extrage cel mai ridicat procent de polifenoli.

Rezultatele obtinute au fost diseminate in abstractul prezentat in anexa, pentru lucrarea ce va fi prezentata la Fifth Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, 5th CMAPSEEC 2.- 5.9. 2008, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno-Czech Republic

CONCLUZII

In urma investigatiei fitochimice calitative si cantitative a speciei *Allium ursinum* si *Sorbus aucuparia* s-au ajuns la urmatoarele concluzii: analiza morfbiochimica s-a realizat pe doua populatii de Leurda, prelevate din areale diferite (Iasi si Botosani) pe plante aflate in diferite fenofaze.

La scorus s-au investigat trei populatii naturale, recoltate din bazine apartinand judetelor Suceava, Neamt si Covasna.

Dupa masuratorile biometrice materialul a fost impartit in doua loturi, unul s-a lucrat cu material proaspata, iar celalalt dup ace material prima a fost uscat pe cale naturala.

Pentru identificarea grupelor majore de principii active s-au efectuat extractii succesive ale materialelor vegetale cu solventi de polaritati diferite (diclormetan, etanol, apa).

- Analiza chimica calitativa a extractelor obtinute din organele vegetale ale speciilor studiate a condus la identificarea grupelor majore de principii active: cumarine, flavonozidele, aminoacizii, compusi reductorii, glucide.

Din frunzele de leurda s-au realizat mai multe tipuri de extracte vegetale: metanolice, etanolice, diclormetanice si apoase. Cele etanolice au fost in concentratie de 70% obtinute prin refluxare, infuzarea materialului cu etanol fierbinte, urmata de extractie la temperatura camerei timp de 24 ore, tincturi de concentratie 50% si 70% (raport materie:prima solvent de 1:10, macerare 14 zile la temperatura camerei. Acestea au servit la dozarea acizilor polifenolici si flavonoidelor.

Evaluand cantitatile obtinute din materialul vegetal infuzat cu etanol fierbinte, urmat de extractia 24 ore la temperatura camerei se constata ca in frunze prelevate de la ambele populatii flavonoidele au valori ridicate, de circa 0,913 g% s.u. pentru prima si de 1,496 g% s.u. pentru cea de a doua populatie . Se confirma faptul ca plantele populatiei de Botosani au valori mai mari pentru acest parametru, care se coreleaza si cu caracterele morfologice reflectate la nivel cantitativ (100 plante = 717,20 g).

S-a constatat ca populatia de Botosani are valorile cele mai mari pentru polifenoli (la nivelul frunzelor), de 0,913 g% s.u. si de 1,496 g% s.u flavonoide, iar in bulbi, cantitatea de poliholozida bruta este de 4,36 g comparativ cu 4,53 g% s.u. in radacini.

Dintre variantele analizate la scorus se constata ca plantele ce apartin populatiei de Dorna Arini (judetul Suceava), au valori ridicate, de 0,741 g% s.u. polifenoli exprimati in acid cafeic, de 1,146 g% flavonoide exprimate in rutozida si poliholozida bruta de 1,83 g% s.u. (dozari gravimetrice), comparativ cu populatiile de Vaduri – Neamt si Ojdula – Covasna.

Determinarile cantitative efectuate in vederea stabilirii metodelor de extractie selective au condus la urmatoarele rezultate:

- In cazul produsului *Allii ursini herba*, extractele in etanol absolut si etanol 70° contin peste 8 mg flavonoide la 100 ml in timp ce in extractele obtinute cu etanol 50° si etanol 30° continutul in flavonoide este de 3,29 si respectiv, 2,25 mg la 100 ml extract.

- Pentru *Sorbi aucupariae fructus* solventul de electie pentru flavonoide il reprezinta etanolul absolut (4,55 mg flavonoide la 100 ml extract) in timp ce in extractele hidroetanolicе obtinute cu etanol de 70° , 50° si 30° continutul in flavonoide nu depaseste 1,7 mg la 100 ml extract.

In cazul produsului *Allii ursini herba*, extractul in etanol 50° s-a dovedit a fi cel mai bogat in polifenoli (25,22 mg polifenoli la 100 ml extract). Trebuie remarcat faptul ca in celelalte extracte (obtinute cu etanol absolut, etanol 70° si etanol 30°) continutul in polifenoli este, de asemenea, ridicat variind intre 21,17 – 23,62 mg la 100 ml.

Pentru *Sorbi aucupariae fructus* extractele in etanol 30° si etanol 50° s-au dovedit a fi mai bogate in polifenoli (20,18 si respectiv, 18,13 mg polifenoli la 100 ml extract) decat extractele obtinute cu etanol 70° si etanol absolut (11,34 si respectiv, 8,93 mg la 100 ml extract).

Pentru compusii sulfurati din *Allii ursini herba* solventul de electie s-a dovedit a fi etanolul 70° (11,33 mg ioni sulfat la 100 ml extract).

In concluzie, se poate aprecia faptul ca, in cazul produsului *Allii ursini herba*, pentru obtinerea unui extract bogat in principii antioxidante (flavonoide, polifenoli, compusi cu sulf) se recomanda folosirea etanolul 70° ca solvent de extractie.

Pentru *Sorbi aucupariae fructus*, etanolul absolut este solventul de electie pentru flavonoide in timp ce etanolul 30° extrage cel mai ridicat procent de polifenoli.

Testarea fitobiologica preliminara a extractelor etanolice de *Allium ursinum* obtinute din frunze, bulbi si radacini a evidentiat ca acestea nu au actiune citotoxica si citogenetica asupra celulelor meristematice a plantulelor de *Triticum aestivum*, utilizat ca material test.

Descrierea/prezentarea diferitelor evenimente derulate in cadrul proiectului

Participari la manifestari stiintifice:

The 5th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, BRNO, 2-5.09.2008

Titlul lucrării: *Obtaining of phytoproducts for the cardiovascular diseases profilaxy*

Note I : Some investigations of the Allium ursinum chemical composition

Autori: Mihailescu Roxana¹, Mitroi Gabriela¹, Iacob Elena¹, Miron Anca², Stanescu Ursula², Gille Elvira³, Cretu Ruxandra¹, Ionescu Elena¹, Giurescu Catrinel¹

⁽¹⁾ *The Commercial Society for Medicinal Plant Research and Processing "PLANTAVOREL" S.A. Piatra-Neamt, Romania*

⁽²⁾ *The Medicine and Pharmacy University "Gr.T.Popa" Iasi*

⁽³⁾ *National Institute for Biological Sciences Research Development / STEJARU Center for Biological, Geographical and Geological Researches, Piatra Neamt, Romania*

ABSTRACT:

It has been shown that *Allium* species may help to prevent cardiovascular diseases and aging specially when are associated with free radicals. Wild garlic, (*Allium ursinum* L.) [Fam. Alliaceae; Liliaceae s.l.], is a bulbous plant found in Europe and northern Asia, known for healthy cholesterol levels activity, antioxidant properties, and antifungal and antibacterial properties. The qualitative and quantitative chemical composition of leaves, flowers and roots of *Allium ursinum*, Romanian origin, were investigated. Some extracts of wild garlic were investigated for flavonoids, polyphenolcarboxylic acids, aminoacids, micro-and macroelements, chlorophyll, carotens, sulfur-containing constituents, using Molecular Spectrophotometry UV-VIS, Atomic Absorption Spectrophotometry, High Performance Thin Layer Chromatography - densitometry, gas-cromatography. Radical scavenging activity was tested against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) and OH radicals, on some water and ethanol extracts of wild garlic.

Keywords: *Allium ursinum*, cardiovascular prophylaxy, radical scavenging activity.