

CZU: 543.4:547.9

DOI: 10.36120/2587-3644.v7i1.22-28

CERCETAREA FITOCHIMICĂ A UNOR SUBSTANȚE BIOLOGIC ACTIVE DIN MUGURII ȘI FRUNZELE ARBORELUI DE MESTEACĂN

Lidia CALMUȚCHI, conf. inter., dr.

Eugenia MELENTIEV, conf. univ., dr.

Mariana SPANCIOC, studentă, UST

Catedra Chimie, Universitatea de Stat din Tiraspol

Rezumat. Progresul tehnico-științific a condus la înrăutățirea situației ecologice din mediul ambiant cu impact negativ asupra sănătății umane. Efectul terapeutic al multor specii de plante se datorează substanțelor biologice active. În articol este propus un punct de vedere privitor la cercetarea flavonoidelor ca substanțe biologice active și la determinarea conținutului și factorilor care influențează acumularea lor în mugurii și frunzele arborilor de mesteacăn.

Cuvinte-cheie: substanțe biologice active, flavonoide, metoda spectrofotometrică, spectre de absorbție, reacții calitative, glicozide, luteolină, rutină, antioxidanți.

PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM THE BUDS AND LEAVES OF THE BIRCH TREE

Abstract. Technical and scientific progress has led to a worsening environmental situation in the environment with a negative impact on human health. The therapeutic effect of many plant species is due to biologically active substances. This article proposes a point of view on the research of flavonoids as biologically active substances, the determination of the content and factors influencing their accumulation in buds and leaves of birch trees.

Key words: biologically active substances, flavonoids, spectrophotometric method, absorption spectra, qualitative reactions, glycosides, luteolin, routine, antioxidants.

Realitatea zilelor noastre arată că secolul trecut a fost perioada celor mai mari descoperiri și transformări ale civilizației omenești, dar și a celor mai complexe și nebănuite efecte asupra vieții. Deteriorarea stării ecologice a mediului conduce în mod inevitabil la încălcarea statutului imun al organismului uman, de aceea una din principalele obiective ale științei moderne constă în cercetarea minimalizării ingredientelor de natură chimică din produsele farmaceutice și cele alimentare prin înlocuirea lor cu cei naturali.

Utilizarea frecventă a plantelor atât în scop terapeutic, cât și în alimentație impune o cunoaștere profundă a substanțelor biologice active din vegetale – pe care se axează potențialul lor antioxidant – în vederea protecției sănătății consumatorului. Substanțele biologice active prezintă o grupă de substanțe organice sau anorganice, care, consumate în cantități foarte mici, produc efecte pronunțate asupra organismului viu. Mesteacănul se consideră una din cele mai valoroase specii de arbori din flora spontană ca sursă importantă de substanțe biologice active. Mesteacănul întrunește peste 120 specii, însă în Republica Moldova mai răspândite sunt speciile *Betula pendula* și *Betula pubescens*.

Substanțele biologice active din mesteacăn sunt repartizate în frunze, muguri, sevă și ciupercă (Tabelul 1).

Tabelul 1. Mesteacănul – sursă de substanțe biologice active

Materialul vegetal	Substanțe biologice active
Mugurii	Uleiuri eterice (8%), flavonoide(apigenină, rutină, kempferol, quercetină, luteolină), alcaloizi, cumarine, acid ascorbic, tanine, gudron de mesteacăn
Frunzele	Flavonoide(rutină, quercetină, ghiperozide), tanine, saponine uleiuri eterice, acid ascorbic, acizi fenoxicarboxilici, cumarine, alcoolii triterpenici, alcolizi
Scoarța	Flavonoide(betulina), cumarine, compuși polifenolici, tanine, terpeni
Seva	Flavonoide, vitamine, saponine, tanine, cumarine, zaharuri, macroelemente (Ca, Mg, Na, K), microelemente (Cu, Mn, Fe, P)

Ambele specii de mesteacăn se folosesc, datorită aspectului deosebit de frumos, în arhitectura peisajeră. Cu toate acestea, ambele specii sunt plante multifuncționale, cu enorme beneficii farmaceutice, ecologice, economice și sociale. Mesteacănul prezintă una din sursele esențiale de reabilitate a mediului ambiant ecologic.

Cercetarea în mesteacăn a prezenței și conținutului substanțelor biologice active sub formă de flavonoide impune standardizarea acestei materii pentru a fi prelucrată și utilizată corect [1, p. 26]. **Scopul cercetării** a fost evaluarea conținutului de flavonoide și stabilirea impactului unor factori asupra dinamicii acumulării lor în materialul vegetal al plantei de mesteacăn.

Material și metode

Materialul vegetal pentru cercetare (mugurii și frunzele) au fost colectate de la speciile de mesteacăn *Betula pendula* și *Betula pubescens* în perioada lunilor martie-octombrie 2018. Probele au fost colectate de pe mai multe plante care fac parte din aceeași specie, de pe terenuri bine luminate de soare și de pe terenuri mai puțin luminate (locuri umbrite din pădure).

Pregătirea corectă a probelor pentru cercetare influențează direct asupra conținutului de flavonoide. Frunzele proaspăt colectate conțin 80-85 % de apă. Sub acțiunea unor enzime, care se găsesc în frunze în cantități majore și posedă o activitate sporită în mediu apos, substanțele biologice active din frunze și muguri se distrug ușor prin alterare.

Uscarea a materialului vegetativ, efectuat la umbră, în încăperi aerisite (umiditatea să fie nu mai mare de 10%), păstrează flavonoidele și alte substanțe biologice active în probele cercetate [2, p. 36].

Extracția flavonoidelor din frunze și muguri este o operațiune de separare și purificare a componentelor dintr-un amestec omogen sau eterogen prin dizolvare selectivă în diferiți solvenți în funcție de solubilitate. Pentru o extracție maximă a flavonoidelor o mare importanță are gradul de macerare a probei, temperatura, natura și

concentrația solventului, timpul acordat extracției etc. Pentru extragerea flavonoidelor din materialul vegetativ cercetat, s-a folosit în calitate de solvent alcoolul etilic cu partea de masă de 70%, la temperatura de 60°C, prin încălzire în baie de apă timp de 2 ore.

Cercetarea prezenței flavonoidelor în probele extrase din muguri și frunze s-a efectuat cu ajutorul reacțiilor calitative cu scopul identificării prezenței unor sau altor reprezentanți ai flavonoidelor, deoarece o reacție specifică pentru toate flavonoidele nu există. Cele mai importante reacții calitative pentru stabilirea prezenței flavonoidelor în mugurii și frunzele de mesteacăn au fost următoarele:

- *Proba Chinoda* (proba cianidinică) - la reducerea flavonoidelor cu hidrogen în prezența Mg și a HCl concentrat; dacă ele sunt prezente sub formă de flavani apare culoare oranj, flavanolii dau culoare roz până la zmeuriu;
- *Proba Briant* - apariția culorii galbene în soluție după adăugarea octanolului a demonstrat prezența glicozidelor;
- *Reacția cu săruri ale Fe(III)* - formează compuși complecși de culoare neagră, dacă sunt prezenți trihidroxiderivați sau verde dacă sunt dioxididerivați ai flavonoidelor;
- *Reacția cu soluție alcoolică de bază alcalină (10%)* - flavonii, flavanolii, flavanonii se dizolvă ușor în alcool cu formarea fenolaților de culoare galben-oranj;
- *Reacția cu diazocompuși* (acidul sulfanilic) - flavonoidele formează o colorație oranj, roșu sau vișiniu. [3, p. 36].

Principalele clase de flavonoide din muguri și frunze de mesteacăn sunt prezentate în Figural.

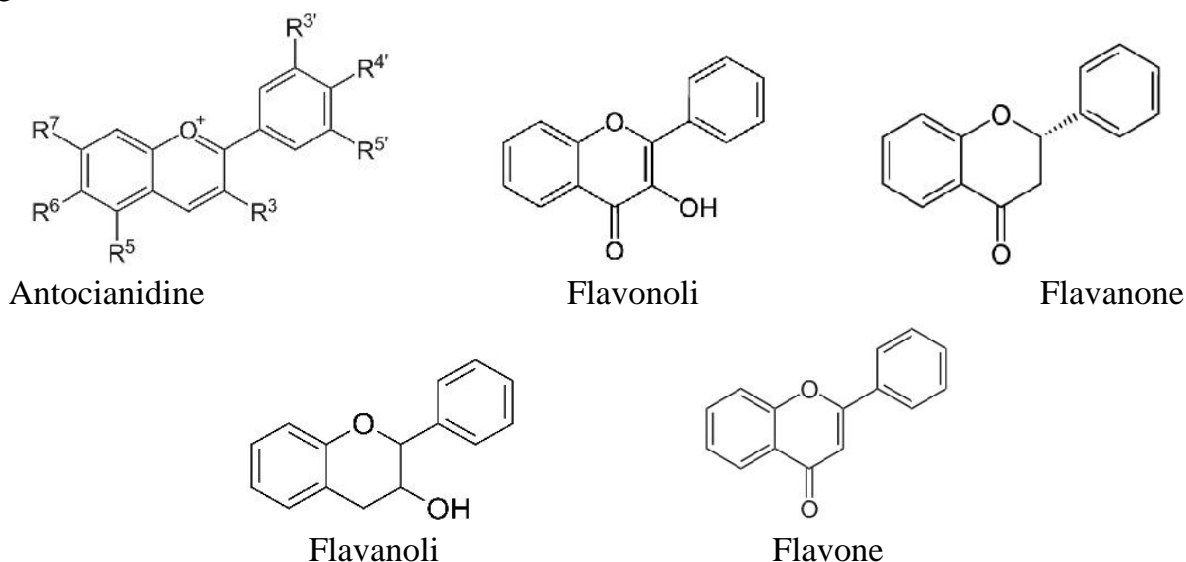


Figura 1. Forme structurale ale principalelor clase de flavonoide

Evaluarea conținutului flavonoidelor din frunzele de mesteacăn a fost efectuată prin cercetarea spectrofotometrică a produsului complex format dintre quercetină cu soluția alcoolică de clorură de aluminiu (AlCl₃) cu concentrația 1-2%, la lungimea de undă 412nm. Indicele de absorbție a complexului format calculat pentru quercetină este egal cu 248 [4, p. 6].

Ecuția reacției cu clorura de aluminiu se prezintă în Figura 2.

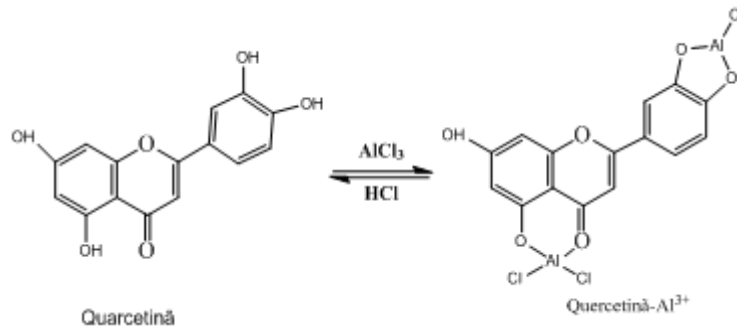


Figura 2. Formarea compusului complex al flavonoidelor cu AlCl₃

Determinarea conținutului de flavonoide în mugurii de mesteacăn a fost efectuată la fel prin cercetarea spectrofotometrică a produsului complex chelat format dintre luteolină cu soluția alcoolică de clorură de aluminiu de 2% la lungimea de undă de 400nm. Indicele de absorbție a complexului format calculat după luteolină este egal cu 549 [5, p. 63].

Rezultate și discuții

Determinarea separată a conținutului fiecărui flavonoid prezent în materialul vegetativ este o tehnologie dificilă și se aplică numai în cazuri mai speciale. Conținutul integral al flavonoidelor din muguri și frunze de mesteacăn a fost determinat după tehnologia propusă de savantul rus Petrova D., adaptată pentru implementare în cercetarea substanțelor biologic active din plantele medicinale. După extracția flavonoidelor cu ajutorul alcoolului etilic, probele au fost supuse cercetării spectrofotometrice. Spectrele optice a extractelor din mugurii de mesteacăn sunt redată în Figura 3 și 4.

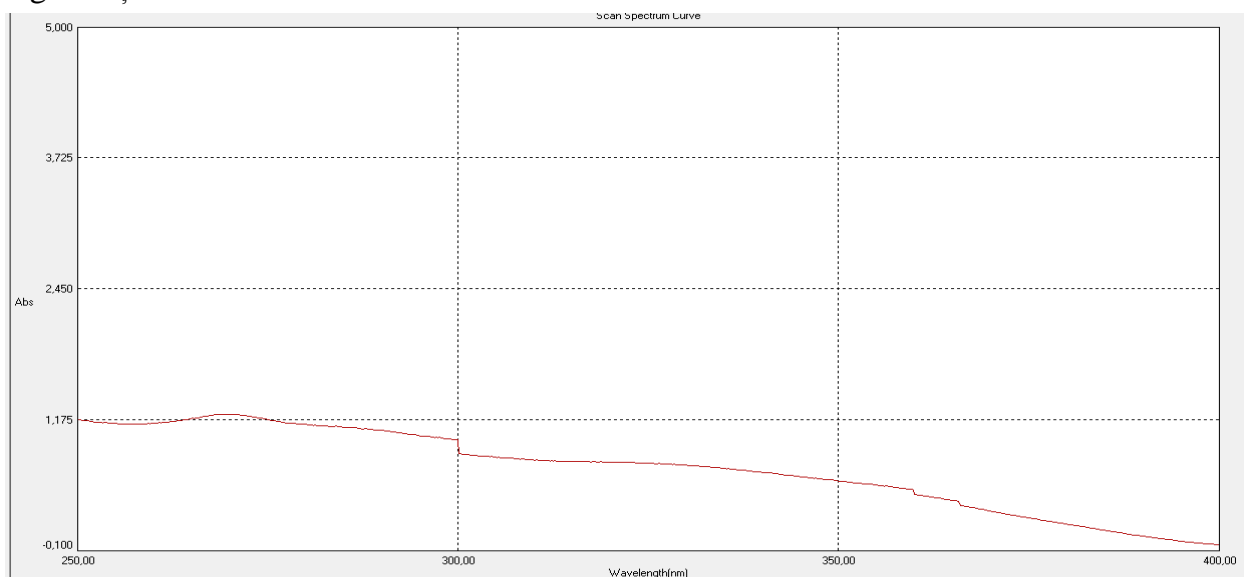


Figura 3. Spectru de absorbție pentru extractul de flavonoide din mugurii *Betula pubescens*

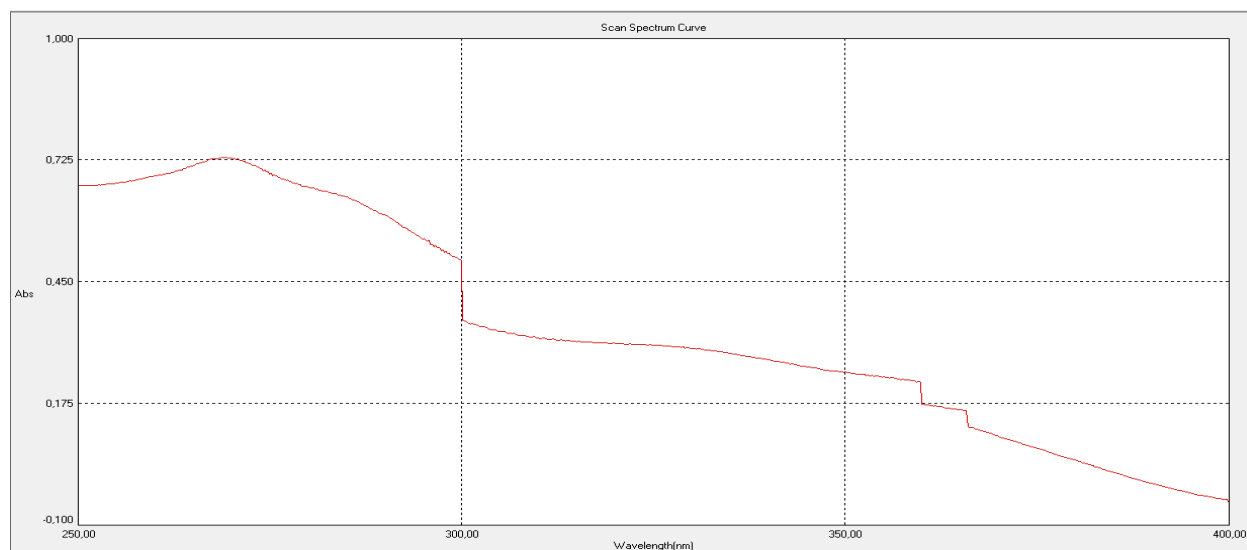


Figura 4. Spectru de absorbție pentru extractul de flavonoide din mugurii *Betula pendula*. Conținutul de flavonoide din mugurii *Betula pendula* și *Betula pubescens* este prezentat în Tabelul 2.

Tabelul 2. Conținutul flavonoidelor din mugurii de mesteacăn cercetați

<i>Produsul vegetal cercetat (muguri)</i>	<i>Densitatea optică</i>	<i>Indicele de absorbție, nm</i>	<i>Umiditatea, %</i>	<i>Conținutul de flavonoide, %</i>
<i>Betula pendula</i>	0,725	400	9	1.2
<i>Betula pubescens</i>	1,180	400	9	2.6

Conținutul flavonoidelor din mugurii din specia *Betula pubescens* este mai sporită decât în *Betula pendula* și alcătuiește 2,6%.

Spectrele de absorbție care oglindesc acumularea flavonoidelor în frunzele de mesteacăn *Betula pubescens* sunt prezentate în Figura 5 și 6.

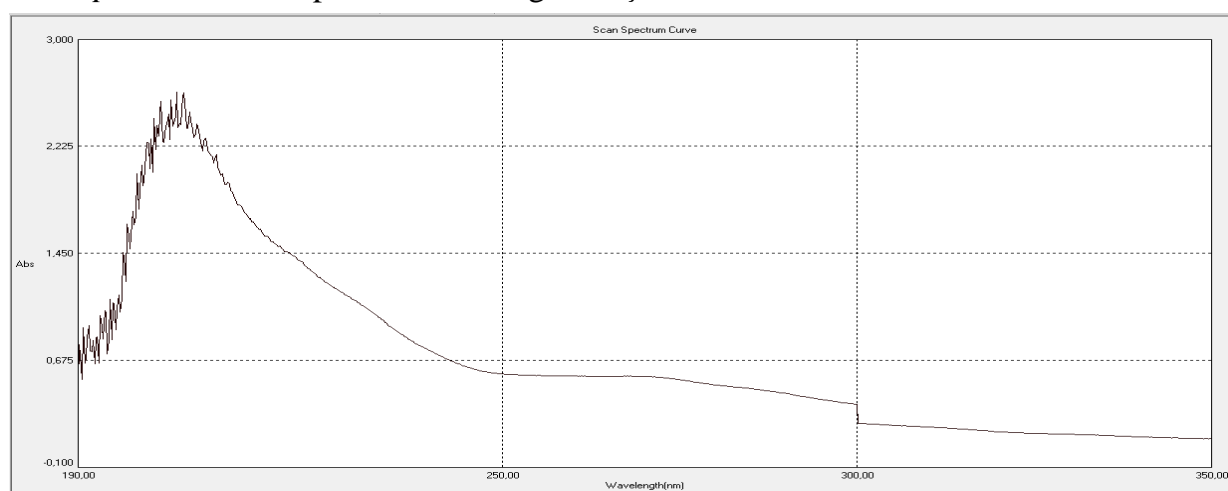


Figura 5. Spectru de absorbție a extractului din frunze *Betula pubescens* (luna aprilie)

Conform calculelor efectuate după spectre se evidențiază o acumulare sporită de flavonoide în frunzele de *Betula pubescens* la sfârșitul perioadei de vegetație odată cu îngălbenirea frunzelor de mesteacăn.

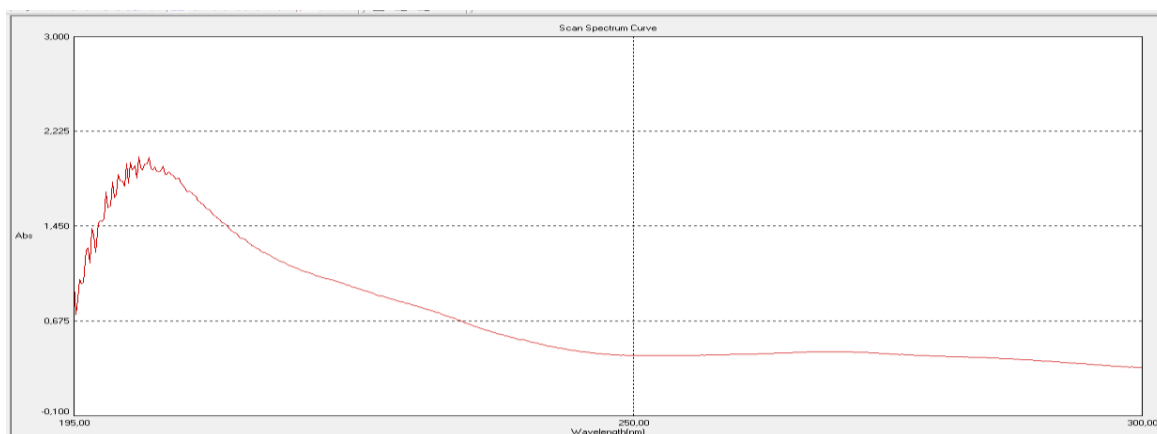


Figura 6. Spectru de absorbție a extractului hidroalcoolic din frunze *Betula pubescens* (luna august)

Dinamica acumulării flavonoidelor în frunzele de mesteacăn pe parcursul perioadei de vegetație este redată în Tabelul 3.

Tabelul 3. Conținutul integral al flavonoidelor din frunzele de mesteacăn

Perioada de colectare	1.04 2018	1.05 2018	1.06 2018	1.07 2018	1.08 2018	1.09 2018
Conținutul flavonoidelor, % (terenuri iluminate) <i>Betula pubescens</i>	7.4	3.5	3.8	2.3	2.6	2.1
Conținutul flavonoidelor, % (terenuri umbrite) <i>Betula pubescens</i>	5.8	2.7	3.2	2	1.9	1.8
Conținutul flavonoidelor, % (terenuri umbrite) <i>Betula pendula</i>	4.9	2.8	3.3	1.8	2.5	2.1
Conținutul flavonoidelor, % (terenuri iluminate) <i>Betula pendula</i>	3	2.2	2.6	1.5	1.7	1.3

Procesul de acumulare a flavonoidelor pe parcursul perioadei de vegetație se prezintă în Figura 7.

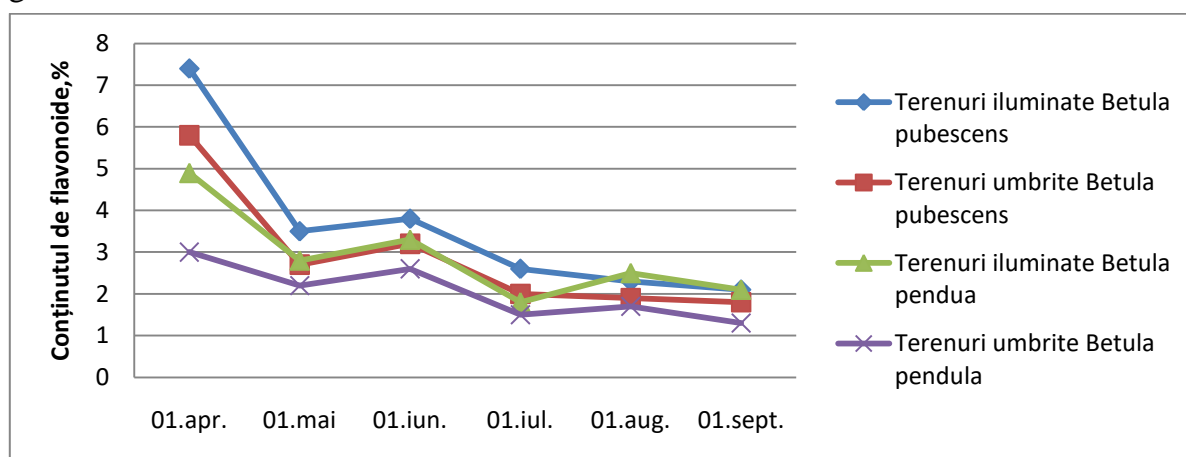


Figura 7. Dinamica acumulării flavonoidelor în frunze pe perioada de vegetație

Concluzii

- Flavonoidele cu soluția alcoolică de AlCl_3 (cu partea de masă 1-2%) formează compusul cu fluorescență galben-verzuie la lungimea de undă 400nm. La baza formării complexului participă activ grupele OH^- libere din pozițiile 3 și 5 ale flavonoidului. Aceasta este o reacție specifică folosită la determinarea conținutului de flavonoide din materialul vegetal terapeutic;
- Lumina solară influențează independent acumularea flavonoidelor. În frunze de *Betula pubescens* conținutul de flavonoide crește semnificativ pe terenuri bine iluminate, pe când în frunzele de *Betula pendula* cantitatea de flavonoide scade. Conținutul maxim de flavonoide în frunzele de mesteacăn a fost determinat în *Betula pubescens* în luna aprilie (terenuri umbrite) – 7,4%. Flavonoidele din muguri au fost calculate după luteolină: în *Betula pendula* ele alcătuiesc 1,2%, iar în *Betula pubescens* – 2,6%.

Bibliografie

1. Леонтьев В. И. Химия биологически активных веществ. Курс электронных лекций. Минск: БГТУ, 2012.
2. Condrat D. Contribuții la obținerea unor extracte de plante cu efect antioxidant. Timișoara: Ed. Politehnica, 2010.
3. Dragota D. Tehnologii de extracție și izolare a unor substanțe biologice active din flora României. București. Ed. Chiminform, 2005.
4. Федосеева Г. М. Фитохимический анализ растительного сырья содержащего флавоноиды. Иркутск. ИГМУ, 2009.
5. Петрова Д. Н. Совершенствование методов анализа ряда флавоноидосодержащих растений. Казань. КГМУ, 2015.