

REZUMAT

Prezenta lucrare de doctorat își propune, studiul plantelor medicinale cu acțiune hepato-biliară, cultivate în condițiile pedoclimatice ale zonei Tecuci. Deoarece, cele mai frecvente boli, din această zonă sunt cele hepato- biliare, am introdus în cultură și în studiu 5 dintre cele mai eficiente plante medicinale, urmărind acumularea de principii active, pentru a fi incluse în fitoterapia acestor afecțiuni. Deși în prezent suprafețe mici de teren sunt cultivate cu plante medicinale, voi încerca să determin extinderea acestor culturi, precum și introducerea lor în diverse fitoterapii.

Doresc să cultiv la elevii mei, încrederea în fitoterapie, la care să apeleze atunci când au nevoie ei sau familiile lor, evitând astfel toxicitatea medicamentelor de sinteză chimică.

Teza de doctorat este structurată în 9 capitole, dezvoltate în 279 pagini, 69 tabele, 70 fotografii, 31 grafice și 18 cromatograme.

Capitolele sunt incluse în două părți, prima parte reprezintă o sinteză a datelor bibliografice, cunoașterea bolilor hepato-biliare și fitoterapia acestora, utilizând cele 13 plante luate în studiu inițial, homeopatia bolilor digestive, având în vedere faptul ca homeopatia nu tratează boli, ci bolnavi. În cea de a doua parte sunt prezentate rezultatele cercetărilor proprii, cu privire la subiectul tezei de doctorat. Această parte are un total de 148 pagini, 65 tabele și 82 figuri.

Lotul experimental a fost amplasat la periferia orașului Tecuci și a cuprins culturi de : *Cynara scolymus* L, *Silybum marianum* L, *Calendula officinalis* L, *Hyssopus officinalis* L și *Mentha piperita* L.

Cultura a fost ecologică (nu s-au administrat îngrășăminte chimice, nici nu s-au făcut tratamente pentru boli și dăunători).

Condițiile climatice din anii de experiență au fost foarte diferite. Anii 2006 și 2008 au fost favorabili culturii plantelor medicinale, și mai puțin anul 2007.

Cele 5 plante au fost observate fenologic, analizate biometric și biochimic. Determinările biochimice, pentru evidențierea acumulării de substanțe active, s-au făcut

la firma PlantExtrakt din județul Cluj. Aceste determinări au avut drept scop stabilirea concentrației de flavonoide acumulate în culturi ecologice, realizate în condițiile pedoclimatice ale sudului Moldovei.

Rezultate foarte bune au înregistrat culturile de *Cynara scolimus*, *Silybum marianum*, *Calendula officinalis*, care au acumulat substanțe active, peste valoarea minimă consemnată în Farmacopeea Română și Europeană.

Cynara scolymus

Au fost efectuate **observații și cercetări, în dinamica vegetației**, care au urmărit creșterea și dezvoltarea, în toată perioada. În primele 30 de zile de la răsărire s-au făcut măsurători la 3, 9, 15, 20, 30, zile.

Analizele biometrice realizate în laborator, au vizat frunzele, plantele întregi, greutatea masei vegetale proaspete. Frunzele au lungimi și lățimi mai mari în anul 2008, dat fiind faptul că au beneficiat de condiții climatice mai bune, comparativ cu anii anteriori. Astfel, adăugând la acești parametri și greutatea frunzelor și numărul de frunze pe plantă s-a obținut o producție mai ridicată de masă vegetativă la hectar în anul 2008 față de 2006 sau 2007.

În perioada de vegetație (aprilie- octombrie, noiembrie), plantele cresc și s-au dezvoltat astfel valorile înregistrate, evidențiază evoluția înălțimii plantelor, de la 70 cm, în luna mai, la 150- 180 cm, până în luna septembrie. Numărul de frunze, a înregistrat o creștere în luna iulie, dar scade în septembrie, cu aproximativ 50%. Inflorescențele din luna iulie, au fost cu 50%, mai puține decât în lunile august și septembrie.

Suprafața frunzelor la *Cynara*, a variat de la 1710 cm² la 8700 cm² în anul 2008. Din cântăririle efectuate la 15 mai, 15 iulie, 15 septembrie în anul 2008, a rezultat o producție de 10.400 kg/ha în luna mai, 17.200 kg/ha în luna iulie și 20.000 kg/ha în septembrie. S- au observat creșteri masive a masei vegetale în lunile iulie, august și septembrie, înregistrându-se în ultima lună o producție dublă față de luna mai.

Analiza **spectrofotometrică a conținutului de pigmenți asimilatori din frunze de *Cynara scolymus***, evidențiază o concentrația în clorofila „a” de 154,0 mg/ 100g, pe parcursul vegetației se observă o scădere a acestui parametru, ajungând în luna

septembrie la o diferență de mai bine de 4% față de luna mai. În schimb s-a evidențiat o creștere a conținutului în clorofilă „b”, astfel că la sfârșitul vegetației creșterea este cu aproximativ 4% mai mare față de luna mai. În general, chiar dacă clorofila „b” crește cantitativ, în ansamblu, cantitatea totală de clorofilă scade pe parcursul vegetației.

De asemenea a scăzut și raportul dintre cele două clorofile, cu aproape 8%. Din frunzele de *Cynara scolymus* analizate, s-au separat o serie de polifenoli – derivați ai acidului cafeic și flavonoide, dintre care prin comparație cu etalonul, s-a identificat acidul clorogenic.

În urma dozării spectrofotometrice a flavonoidelor exprimate în rutozidă s-a obținut o valoare de $3,03 \pm 0,15\%$. Aceasta este o valoare de circa 8,5 ori mai mare decât minimul prevăzut pentru această plantă în Farmacopeea Română ediția X (minim 0,35%).

Aceasta demonstrează că **zona Tecuci este foarte favorabilă acumulării de flavonoide la *Cynara scolymus*.**

Silybum marianum

Cultura a fost înființată în primăvara anului 2006, prin semănat, după ce s-a verificat puterea de germinație a semințelor.

Materialul biologic recoltat a fost analizat biometric în laborator, cu privire la înălțimea plantelor, numărul de frunze și numărul de inflorescențe pe plantă, greutatea masei vegetale proaspete. În prima lună de vegetație, creșterile au fost masive, planta ajungând la o lungime de 4 ori mai mare. De asemenea și-a dublat numărul de frunze pe plantă. În luna iulie observăm o creștere a plantei în înălțime mai redusă, în schimb numărul de frunze s-a triplat.

Producția înregistrată în luna mai a fost cu mult sub medie. În luna iulie, ceva mai mult de jumătate din media înregistrată. În schimb, la sfârșitul perioadei de vegetație, în luna septembrie, producția a fost de două ori și jumătate mai mare decât media.

Cromatogramele pentru identificarea flavonoidelor specifice, evidențiază în probă benzi corespunzătoare silibinei, taxofilinei și silicristinei, conform descrierii din Farmacopeea Europeană. Prin cromatografia pe strat subțire s-au putut separa silimarinele specifice: silibina, taxofilina și silicristina.

În urma dozării spectrofotometrice a silimarinelor exprimate în silibină s-a obținut o valoare de $1,74 \pm 0,07 \%$.

Conform Farmacopeei Germane ediția .X, condiția de calitate minimă 1% silimarină exprimat prin silibina.

Deci condițiile pedoclimatice din sudul Moldovei, favorizează acumularea de flavonoide, iar în urma dozării spectrofotometrice au fost obținute valori medii mai mari cu 0,74%.

Flavonoidele, substanța activă prezentă în semințele de armurariu, favorizează regenerarea celulelor hepatice, cresc capacitatea organismului și, în special, a ficatului de a se apăra de infecții, fapt ce conduce la folosirea cu rezultate foarte bune în tratamentele împotriva hepatitei virale, a hepatitei de tip A, B, C, și, în special, în capacitatea ficatului de a se apăra de infecții.

Este, recomandat și în tratarea icterelor și a insuficienței hepatice, unde silibinina, o altă substanță conținută de plantă împiedică procesul de acumulare a toxinelor în ficat, favorizând activitatea celulelor hepatice și, nu în ultimul rând, la stimularea eliminării compușilor toxici din celulele hepatice.

Silimarina *stimulează refacerea hepatocitului* (celula hepatică), apariția și dezvoltarea de noi celule hepatice, favorizând sinteza proteinelor. Protejează integritatea membranei celulare a hepatocitelor, prin faptul că împiedică pătrunderea în celulele hepatice a unor substanțe hepatotoxice (alcool etilic, substanțe chimice toxice, medicamente cu risc hepato-toxic, toxine rezultate în urma prelucrării alimentelor etc).

Totodată silimarina reduce riscul dezvoltării calculilor biliari și favorizează digestia, fluidificând și eliminând bila.

Calendula officinalis

Analizele biochimice au determinat conținutul în pigmenți asimilatori, determinarea saponinelor, și dozarea spectrofotometrică a flavonoidelor exprimate în rutozidă.

Saponina obținută are culoare alb-murdar-gălbui, dizolvat în apă are $\text{pH} = 4,5 - 5$, iar la agitare formează o spumă foarte abundentă care se menține peste 2 ore.

Cromatograma de identificare a flavonoidelor specifice prin cromatografie pe strat subțire, demonstrează că benzile de compuși separați sunt similare în cele 2 probe (flori recoltate în lunile august și octombrie). Benzile fiind mai intense în proba a și puțin mai slabe în proba b. Se observă benzi specifice saponinelor în jurul nivelului escinei.

Comparând valorile de referință ale etaloanelor de acid galic și escin, cu valorile obținute din componentele separate din probe, constatăm aceleași valori, ceea ce demonstrează prezența saponinelor.

Cromatogramele pentru identificarea flavonoidelor specifice, înainte și după pulverizare cu NTS, prezintă benzi de compuși separați similare în cele 2 probe. Benzile fiind mai intense în proba a și mai slabe în proba b. Se observă benzi în dreptul rutinului și în dreptul acidului clorogenic. În urma analizei comparative a probelor în raport cu etaloane de rutin și acid clorogenic s-a confirmat prezența, în proba a, a acidului clorogenic și a rutinului. Această confirmare se bazează pe compararea valorilor R_f a etalonului cu a compusului separat din probe respectiv pe compararea aspectului benzii etalonului cu cea a compusului separat din probe.

Benzile galben-brun corespund flavonoidelor, iar benzile albastre corespund derivaților polifenolcarboxilici.

În urma dozării spectrofotometrice a flavonoidelor exprimate în rutozidă s-a obținut o valoare de $0,60 \pm 0,03\%$.

Conform Farmacopeei Europene, condiția de calitate minimă este de 0,4% flavonoide totale exprimate în hiperozidă.

Concentrația de flavonoide din probe este mai mare cu 50%, față de valoarea minimă, ceea ce demonstrează o capacitate terapeutică mai mare.

Hyssopus officinalis

Cultura de isop a fost înființată pe 8 aprilie 2006, prin semănare direct în câmp.

În anul 2008 a fost înregistrată cea mai mare producție de hreba proaspătă, cu aproape 60% mai ridicată față de 2006 și cu peste 40% față de 2007.

Și în acest caz, temperaturile ridicate din timpul verii, precum și lipsa precipitațiilor din 2006 și mai ales în 2007, au dus la creșteri vegetative modeste, față de 2008.

Și pentru herba uscată este menținut același raport de producție, cu un maxim în anul 2008 (3125 kg/ha) și un minim în 2006 (1975 kg/ha).

Conținutul în clorofilă “a” are o valoare mai redusă decât la celelalte specii studiate, excepție făcând doar *Callendula officinalis*. Valoarea acestuia a scăzut pe parcursul vegetației cu aproape 6% față de luna mai.

Clorofila “b” are valoarea cea mai ridicată dintre speciile studiate, ea scăzând cu aproape 7% pe parcursul perioadei de vegetație.

Cromatogramele în UV 254nm, nu evidențiază benzi în dreptul sinensetinei dat fiind faptul că flavonoida specifică plantei este hesperidina cu structura flavonoidică metoxilată similară sinensetinei.

Hesperidina, alături de flavone și flavonali, intră în compoziția vitaminei P. Rolul de baza al flavonoidelor este acela de a mări rezistența vaselor capilare, a regla absorbția la acel nivel. Contribuie alături de vitamina C la menținerea stării de sănătate a țesutului conjunctiv.

Vizualizarea în UV 365 nm înainte și după pulverizare, evidențiază benzi galben-brun ce corespund flavonoidelor, și benzi albastre ce corespund compușilor flavonoidici polimetoxilați.

În urma dozării spectrofotometrice a flavonoidelor exprimate în rutozidă s-a obținut o valoare de $0,19 \pm 0,06\%$.

Flavonoidele și vitaminele acționează sinergic. Au fost confirmate efectele imuno-stimulatoare și anti-cancerigene ale acestora. Aceste substanțe se hidrolizează sub efectul florei bacteriene intestinale și se transformă în agliconi biologic activi.

Mentha piperita

Înființarea culturii s-a făcut prin plantarea stolonilor în luna martie 2006, când temperatura aerului varia între 5,8 -14,4°C, iar umiditatea atmosferică 65%.

Din frunzele de mentă, s-a determinat cantitativ uleiul volatil. Conform monografiei de determinare a uleiului volatil din plante - Farmacopeea Europeană, ediția 6, EDQM, 2008, condiția de calitate este de 12 ml ulei volatil/ kg plantă uscată.

Uleiul volatil obținut are culoare galben deschis și miros pregnant de mentol. În proba a (frunze recoltate în luna august, ziua, orele 14), concentrația de ulei volatil a fost de 0,71%. Proba b, reprezentând frunze recoltate în luna octombrie la ora 20, indică o concentrație de 0,37 %. Acest rezultat se explică prin faptul că, noaptea toate substanțele produse în fotosinteză în timpul zilei, migrează din frunze spre alte organe ale plantei.

Cromatogramelor de identificare a componentelor terpenice din uleiul volatil pe strat subțire, demonstrează separarea compușilor terpenici specifici uleiului volatil, identificându-se mai exact mentolul, atât în extractul de frunze cât și în uleiul volatil separat. Pe baza comparării valorilor R_f și a aspectului benzilor cu cele ale etalonului, se observă că în uleiul volatil sunt mai puține componente ca în extractul diclorometanic din frunze, deoarece acest solvent extrage și alte clase de compuși activi.

Mentolul- stimulează secreția și funcția biliară și hepatică, fiind coleretic – colagog; stimulează producerea bilei, influențează pozitiv fluiditatea și asigurând totodată degajarea vezicii biliare.

Mentha piperita frunze are monografie în Farmacopeea Europeană, ediția 6, EDQM, 2008.

În 2008 s-a urmărit efectul separat sau cumulat al tratamentelor cu substanțe stimulative și retardante de creștere. Plantele s-au stropit în timpul creșterii vegetative.

Analiza s-a făcut asupra producției de frunze proaspete, herba, componentele de masă proaspătă, dar și producția de ulei eteric din herba.

Cea mai mare producție a fost înregistrată la varianta tratată cu acid giberilic. Valori mai mari decât controlul s-au înregistrat și la variantele tratate cu AIA și 6 - Benziladenină. Cycocelul și Ethrelul au inhibat creșterea vegetativă, obținându-se valori mai mici decât martorul. Ca și în cazul producției de frunze, producția de herba este

superioară față de control la variantele tratate cu Acid giberilic, AIA și 6 - Benziladenină, iar Cycocelul și Ethrelul au inhibat creșterea vegetativă.

La DL 0,1% producția a crescut cu aproape 50%.

Toate substanțele au efect benefic în ceea ce privește acumularea de ulei eteric în plantele de mentă. Cel mai mult AIA stimulează sinteza acestor uleiuri, mai puțin acidul giberilic și Ethrel-ul.