



UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI



**FACULTATEA DE CHIMIE APLICATĂ ȘI ȘTIINȚA
MATERIALELOR**

OBȚINEREA ȘI ANALIZA DE CONȚINUT A EXTRACTELOR NATURALE FOLOSITE CA SUPLIMENTE NUTRITIVE

Rezumatul tezei

Profesor Coordonator:

Prof. Dr. Ing. Liane Raluca STAN

Drd. Inginer Chimist:

Neagu (Codreanu) Andreea-Miruna

Cuprins

OBIECTIVELE ȘI STRUCTURA LUCRĂRII	4
INTRODUCERE	5
MOTIVAREA STUDIULUI	Error! Bookmark not defined.
PARTEA ÎNTÂI – STUDIU DE LITERATURĂ	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL I – BAZELE TEORETICE ALE PROCESULUI DE EXTRACȚIE A SUBSTANȚELOR BIOLOGIC ACTIVE DIN PRODUSE VEGETALE	Error! Bookmark not defined.
I.1. Obținerea extractelor vegetale	Error! Bookmark not defined.
I.1.1. Principii generale.....	Error! Bookmark not defined.
I.1.2. Metode convenționale de obținere a extractelor din plante....	Error! Bookmark not defined.
I.1.3. Etapele procesului de extracție.....	Error! Bookmark not defined.
I.1.4. Factorii care influențează viteza și plenitudinea extracției	Error! Bookmark not defined.
I.2. Metode de caracterizare a extractelor vegetale	Error! Bookmark not defined.
I.3. Utilizări ale extractelor vegetale	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL II - STUDIU DE LITERATURĂ PRIVIND PLANTELE MEDICINALE SELECȚIONATE	Error! Bookmark not defined.
II.1. Descrierea plantelor medicinale cu efect antiinflamator	Error! Bookmark not defined.
II.1.1. Salcia.....	Error! Bookmark not defined.
II.1.2. Rozmarinul.....	Error! Bookmark not defined.
II.1.3. Șovârful	Error! Bookmark not defined.
II.2. Descrierea plantelor medicinale folosite în ameliorarea bolilor cardiovasculare..	Error! Bookmark not defined.
II.2.1. Talpa găștei	Error! Bookmark not defined.
II.2.2. Păducelul	Error! Bookmark not defined.
II.3. Descrierea plantelor medicinale cu efect hepatoprotector	Error! Bookmark not defined.
II.3.1. Armurariul.....	Error! Bookmark not defined.
PARTEA A DOUA – STUDIU EXPERIMENTAL	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL III – MATERIALE ȘI METODE	6

III. 1. Materiale și echipamente utilizate.....	6
III.2. Obținerea extractelor din cele 6 plante investigate	7
III.3. Metodologia experimentală.....	Error! Bookmark not defined.
III.3.1. Metoda spectrofotometrică de determinare a activității antioxidante	Error! Bookmark not defined.
III.3.2. Determinarea spectrofotometrică a polifenolilor totali exprimați în acid galic.....	Error! Bookmark not defined.
III.3.3. Determinarea spectrofotometrică a flavonelor totale exprimate în rutin.....	Error! Bookmark not defined.
III.3.4. Determinarea spectrofotometrică a taninurilor totale exprimate în pirogalol.....	Error! Bookmark not defined.
III.3.5. Determinarea spectrofotometrică a antocianilor totali exprimați în clorură de cianidină 3-O-glucozidă	Error! Bookmark not defined.
III.3.6. Determinarea prin HPLC a derivaților salicilici exprimați în salicină	Error! Bookmark not defined.
III.3.7. Determinarea prin HPLC a silimarinei.....	Error! Bookmark not defined.
III.3.8. Determinarea prin GC-MS a compușilor volatili ..	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL IV – CARACTERIZAREA PLANTELOR MEDICINALE ȘI A EXTRACTELOR CU EFECT ANTIINFLAMATOR	8
IV.1. Obținerea extractelor din salcie, rozmarin și șovârf	8
IV.2. Caracterizarea salciei pe componente	11
IV.3. Caracterizarea scoarței de salcie prin diferite tehnici de extracție.....	12
IV.4. Caracterizarea rozmarinului și a șovârfului	Error! Bookmark not defined.
IV.5. Caracterizarea unor extracte vegetale cu efect antiinflamator	13
IV.6. Valorificarea deșeurilor de scoarță de salcie.....	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL V – CARACTERIZAREA PLANTELOR MEDICINALE ȘI A EXTRACTELOR FOLOSITE ÎN AMELIORAREA BOLILOR CARDIOVASCULARE.....	17
V.1. Obținerea extractelor din talpa găștei și păducel.....	17
V.2. Caracterizarea extractelor din talpa găștei și păducel	18
CAPITOLUL VI – CARACTERIZAREA PLANTEI MEDICINALE ȘI A EXTRACTELOR CU EFECT HEPATOPROTECTOR	23
VI.1. Obținerea extractelor din armurariu	23
VI.2. Caracterizarea extractelor din armurariu.....	24

CONCLUZII GENERALE	28
CONTRIBUȚII ORIGINALE	30
RECOMANDĂRI ȘI DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE.....	31
BIBLIOGRAFIE.....	33
LISTA PUBLICAȚIILOR REZULTATE ÎN URMA CERCETĂRII DOCTORALE	31

Cuvinte-cheie: extracție convențională, compuși polifenolici, salcie, rozmarin, șovârf, talpa găștei, păducel, armurariu, cromatografie de lichide de înaltă performanță, spectrofotometrie UV-Vis, derivați salicilici, efect antiinflamator, macerare, percolare, reflux, efect cardioprotector, silimarină, efect hepatoprotector.

Notă: Notațiile capitolelor, subcapitolelor și respectiv ale figurilor, tabelelor și graficelor din acest document sunt aceleași cu cele existente în teza de doctorat.

OBIECTIVELE ȘI STRUCTURA LUCRĂRII

Scopul acestui program de cercetare a fost de a investiga compoziția a șase plante medicinale frecvent utilizate în ameliorarea inflamației (salcie, rozmarin și șovârf), în ameliorarea bolilor cardiovasculare (talpa găștei și păducel) și cu efect hepatoprotector (armurariu), și a extractelor obținute din aceste plante prin varierea unor parametri de extracție (metoda de extracție, concentrația solventului) pentru a maximiza conținutul în compuși de interes (anumite flavone și polifenoli, antocianine etc.).

Principalele obiective ale studiului sunt: obținerea și caracterizarea unor extracte din plante medicinale cu efect antiinflamator (salcie, rozmarin și șovârf), obținerea și caracterizarea unor extracte din plante medicinale folosite în ameliorarea bolilor cardiovasculare (talpa găștei și păducel) și obținerea și caracterizarea unor extracte din armurariu, plantă medicinală cu efect hepatoprotector.

Lucrarea este structurată în două părți, și anume: în prima parte este prezentat un studiu de literatură cu privire la tema de cercetare, iar în a doua parte este prezentată partea experimentală originală.

Studiul de literatură este structurat mai departe în două capitole.

În **capitolul I** este prezentat studiul de literatură cu privire la obținerea extractelor vegetale care cuprinde informații despre principiile generale ale extracției substanțelor biologice

active din produsele vegetale, metodele convenționale de extracție a acestora, cât și etapele și factorii care o influențează. De asemenea, sunt prezentate metode de caracterizare și utilizări ale extractelor vegetale.

În **capitolul II** este prezentat studiul de literatură cu privire la cele șase plante medicinale selecționate. Acesta cuprinde descrierea plantelor cu efect antiinflamator (salcie, rozmarin, șovârf), a plantelor folosite în ameliorarea bolilor cardiovasculare (talpa găștei și păducel) și a armurariului, plantă cu efect hepatoprotector.

A doua parte a lucrării (partea originală) este structurată în patru capitole.

Capitolul III prezintă cercetarea efectuată pentru extracția și cuantificarea compușilor fenolici din cele șase plante studiate. Acest capitol este împărțit mai departe în trei subcapitole în care se prezintă materialele și echipamentele utilizate, obținerea extractelor prin metode convenționale și metodele spectrofotometrice și cromatografice care au ajutat la stabilirea profilului fitochimic al extractelor biologic active.

Capitolul IV cuprinde cercetarea efectuată pentru caracterizarea extractelor obținute din plantele medicinale cu efect antiinflamator. În acest capitol se prezintă studiul salciei pe componente, al scoarței de salcie prin varierea modalității de extracție, al rozmarinului și al șovârfului, dar și caracterizarea unor extracte vegetale cu efect antiinflamator.

În **capitolul V** este prezentată cercetarea efectuată pentru caracterizarea extractelor obținute din plante medicinale studiate. Mai departe am urmărit condițiile de extracție a compușilor fenolici de interes prin varierea unor parametri de extracție: concentrația de alcool etilic și metoda de extracție, pentru găsirea unei metode adecvate de extracție a claselor de compuși de interes fitoterapic.

În **capitolul VI** s-a urmărit influența condițiilor de recoltare asupra conținutului compușilor bioactivi din fructele nedegresate/degresate de armurariu, dar și din extractul apos și din tinctura obținute din fructe degresate de armurariu.

INTRODUCERE

Produsele naturale pe bază de plante medicinale au constituit principala modalitate de tratament al bolilor pe tot globul, până la apariția medicinei științifice, mai ales că primele preocupări ale omului pentru tratarea bolilor s-au întreprins spre plantele din mediul înconjurător.

Plantele medicinale, pe baza cunoașterii tot mai profunde a compoziției lor chimice, a însușirilor lor farmacodinamice, cu ajutorul unor metode analitice de investigație de înaltă

performanță, constituie în momentul de față una din principalele surse de materii prime în vederea preparării unor produse naturale necesare menținerii stării de sănătate.

De asemenea, valoarea terapeutică a plantelor medicinale are la bază relația dintre structura chimică a substanțelor active și acțiunea lor farmacologică pe care o exercită asupra elementelor reactive ale organismului uman.

Proprietățile farmacodinamice multiple ale aceleiași plante pot fi explicate prin faptul că majoritatea plantelor medicinale au o compoziție chimică complexă, începând de la 2-3 compuși până la 30-40 substanțe biologic active identificate în unele plante; substanțele biologic active, deși în concentrații foarte mici, își combină acțiunea și acționează prin sinergism. În acest sens, trebuie privit și admirat "miracolul naturii" care a știut să realizeze în plante combinațiile ideale de substanțe active, cu efecte benefice pentru sănătatea oamenilor.

În schimb, drumul foarte lung parcurs de omenire, a fost și este condiționat de evoluția gândirii și a metodologiei științifice de investigare. Abia acum putem susține că ne aflăm cu adevărat pe acest drum, dar mai sunt necesari ani, decenii, dacă nu chiar secole, pentru a dezlega toate secretele pe care le ascund plantele.

Fitoterapia modernă ia în considerare întreaga cunoaștere umană, deosebit de bogată, din domeniul fitoterapiei, crescând însă foarte mult exigențele referitoare la: controlul calității plantelor prin mijloace moderne și a compoziției chimice a acestora, a posibilelor efecte secundare nedorite și în special elaborarea unor formule și forme farmaceutice cât mai adecvate ca biodisponibilitate și eficiență pentru sănătate.

Toate aceste aspecte, de importanță deosebită pentru producția de produse farmaceutice, au stat la baza cercetărilor din prezenta lucrare, pentru obținerea unor noi produse cu acțiune antiinflamatoare, hepatoprotectoare și a unor produse utilizate în ameliorarea afecțiunilor cardiovasculare.

CAPITOLUL III – MATERIALE ȘI METODE

III. 1. Materiale și echipamente utilizate

Materiale

Tetrahidrofuran (Merck), metanol (Merck), acetonitril (Merck), etanol 96% (Merck), acid fosforic (Merck), acid clorhidric 97% (Merck), pelete de hidroxid de sodiu (Merck), D (-) salicină (Sigma-Aldrich), silimarină (Sigma-Aldrich), acetat de sodiu (VWR), clorură de aluminiu (VWR), rutin (Sigma-Aldrich), acid galic monohidrat (Sigma-Aldrich), reactiv Folin-Ciocalteu (Merck), carbonat de sodiu anhidru (Merck), sulfat de cupru pentahidrat (Merck),

neocuproină (Sigma-Aldrich), acetat de amoniu (Merck), trolox (Sigma-Aldrich), pulbere de piele (Sigma-Aldrich), pirogalol (Sigma-Aldrich) au fost de calitate analitică și au fost utilizate fără alte purificări.

Apa ultrapură (18,2 MΩ) a fost utilizată pentru toate experimentele. Filtrarea probelor HPLC a fost efectuată folosind filtre PA cu pori cu diametrul de 0,2 μm.

Coaja, ramura de copac și frunzele copacilor tineri și maturi de salcie albă (*Salix alba*) au fost recoltate de la SC Hofigal Export-Import SA în iunie 2020. Probele au fost separate manual, uscate și măcinate.

Rozmarinul (*Rosmarinus officinalis* – herba) și șovârful (*Origanum vulgare* – herba), talpa găștei (*Leonurus cardiaca* – herba) și păducelul (*Crataegus monogyna* – fructus, flos și folie) au fost recoltate de la SC Hofigal Export-Import SA în perioada iulie-august 2019. Probele au fost separate manual, uscate și măcinate.

Fructele de armurariu (*Silybum marianum*) au fost recoltate de la SC Hofigal Export-Import SA în perioada mai-octombrie 2019. Probele au fost separate manual, uscate și măcinate.

Echipamente utilizate

Pentru pregătirea materiei prime am utilizat următoarele echipamente: balanța analitică Partner AS 310.R2; uscător plante Biovita-DEH600D; moară de laborator Retch GM 200; aparat de sitat Retch AS 200 Basic.

Pentru pregătirea probelor de analizat am utilizat următoarele echipamente: baie de ultrasonare Elmasonic P180 H; baie de apă Julabo TW8; centrifuga Ortoalresa 21 R; rotavapor Buchi R-300 EL, echipat cu baie de apă B-300 Base, pompă de vid V-300 și chiller cu recirculare F-308; termobalanță VWR MB 160; termoreactor WTW CR 3200; sistem purificare apă Milli-Q Direct 8.

Analiza HPLC a fost efectuată utilizând un sistem Agilent EZChrom Elite echipat cu un detector DAD și o coloană HiCHROM LiChrosorb 100 RP-18, particule de 10 μm (4,6 x 250 mm).

Spectrofotometria UV-Vis a fost efectuată pe un spectrofotometru UV-Vis Jasco V-530, cu rezoluție de 2,0 nm și configurație cu fascicul dublu.

Cromatografia de gaze cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS) a fost realizată pe un cromatograf de gaze Termo-GC, având detector spectrometru de masă DSQ P 5000. S-a utilizat

o coloană Macrogol 2000, iar pentru identificarea picurilor corespunzătoare compușilor analizați s-a dispus de biblioteca de spectre NIST.

III.2. Obținerea extractelor din cele 6 plante investigate

În urma aplicării procedeele de extracție propuse, au fost obținute următoarele extracte cu efect antiinflamator:

- Extract hidroalcoolic, extract apos, decoct și tinctură din salcie, rozmarin și șovârf;
- Extracte obținute prin refluxare, la termoreactor și prin ultrasonare din scoarță de salcie;
- Extracte obținute prin ultrasonare (la 110°C, 120°C și 150°C) și la microunde din deșeul de scoarță de salcie;

În urma aplicării procedeele de extracție propuse, au fost obținute următoarele extracte cu rol în ameliorarea bolilor cardiovasculare:

- Extracte obținute prin macerare, percolare și reflux (solvent de extracție: EtOH 30%, EtOH 50% și EtOH 70%) din păducel și talpa gâștei;

În urma aplicării procedeele de extracție propuse, au fost obținute următoarele extracte cu efect hepatoprotector:

- Extract apos și tinctură din fructe degresate de armurariu.

CAPITOLUL IV – CARACTERIZAREA PLANTELOR MEDICINALE ȘI A EXTRACTELOR CU EFECT ANTIINFLAMATOR

IV.1. Obținerea extractelor din salcie, rozmarin și șovârf

a. Obținerea extractelor prin varierea solvenților de extracție

Toate structurile aparatului locomotor: os, cartilaj, sinovială, ligamente, capsulă articulară, mușchi pot genera de suferințe de tip reumatismal. Afecțiunile reumatice în general aduc organismului uman diferite grade de disconfort, de la durere și dificultăți de mișcare ușoare, la dureri greu de suportat și imobilizare avansată. Din aceste motive este indicat să se intervină în formele de debut ale bolii, forme ușoare de manifestări reumatice, cu produse naturale care sunt eficiente în aceste etape și nu produc efecte secundare nedorite.

Plantele care au un conținut semnificativ de derivați salicilici au fost utilizate datorită proprietăților analgezice și antiinflamatoare încă din timpuri străvechi în medicina populară.

Scoarța de salcie albă reprezintă sursa principală de salicină și alți derivați salicilici – salicortină, 2'-O-acetilsalicortină și tremulacină – compuși similari în privința structurii cu aspirina (acid acetilsalicilic), deseori salcia albă fiind denumită "aspirina vegetală". Salicina, prin

hidroliză enzimatică indusă de emulsină și diastază se scindează în glucoză și saligenină, cunoscută și sub denumirea de alcool o-oxibenzilic sau saligenol. Saligenina produce la rândul său, prin oxidare, acid salicilic, cu notabile proprietăți analgezice, antipiretice și antireumatice, realizând astfel un efect treptat, prelungit. De asemenea, taninurile prezente în scoarța de salcie au acțiune tonică, astringentă, coagulantă și ușor hemostatică (Assessment Report on Salicis Cortex (Willow Bark) and Herbal Preparation(S) thereof with Well-Established Use and Traditional Use. Doc.Ref.:EMA/HMPC/295337/2007, 2009).

Extracția cu solvenți este cel mai utilizat tip de extracție pentru compușii bioactivi din plante. În operația de extracție, alegerea solventului se face în funcție de natura substanței ce urmează a fi extrasă și de natura materiei prime. Pentru a compara rezultatele obținute și a folosi în continuare metoda cea mai eficientă de extracție a compușilor de interes, s-au aplicat în paralel mai multe metode de extracție, obținând astfel tinctură, decoct, extract hidroalcoolic și extract apos de salcie, rozmarin și șovârf (Tabelele 5-8).

Tabelul 5. Compoziția extractului apos de salcie, rozmarin și șovârf

Extract apos de salcie, rozmarin și șovârf	Cantitatea, g
Scoarță de salcie (<i>Salix alba</i>)	167,5
Rozmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	32,5
Șovârf (<i>Origanum vulgare</i>)	32,5
Apă purificată	5500
Total (după concentrare)	100

Tabelul 6. Compoziția extractului hidroalcoolic de salcie, rozmarin și șovârf

Extract hidroalcoolic de salcie, rozmarin și șovârf	Cantitatea, g
Scoarță de salcie (<i>Salix alba</i>)	20,00
Rozmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	4,00
Șovârf (<i>Origanum vulgare</i>)	4,00

Etanol 96 % (v/v)	20,00
Apă purificată	q.s.ad.100

Tabelul 7. Compoziția decoctului de salcie, rozmarin și șovârf

Decoct de salcie, rozmarin și șovârf	Cantitatea, g
Scoarță de salcie (<i>Salix alba</i>)	20,00
Rozmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	4,00
Șovârf (<i>Origanum vulgare</i>)	4,00
Apă purificată	75
Total (după răcire se aduce la volum de 200 mL)	100

Tabelul 8. Compoziția tincturii de salcie, rozmarin și șovârf

Tinctură de salcie, rozmarin și șovârf	Cantitatea, g
Scoarță de salcie (<i>Salix alba</i>)	28,00
Rozmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	7,00
Șovârf (<i>Origanum vulgare</i>)	7,00
Etanol 96 % (v/v)	210

b. Obținerea extractelor prin diferite tehnici de extracție

Derivații salicilici au fost extrași din scoarța de salcie prin diferite tehnici de extracție, cum ar fi reflux pe baie de apă, ultrasonare și extracție utilizând un termoreactor. În timpul experimentului, raportul de 1:8 plantă:solvent a fost menținut constant. Condițiile de extracție au fost următoarele:

- Extracția la reflux pe baie de apă a fost efectuată la o temperatură de 60°C, timp de 60 de minute;

- Extracția la termoreactor a fost efectuată la o temperatură de 60°C, timp de 60 de minute;
- Extracția prin ultrasonare a fost efectuată la temperatura camerei, timp de 30 de minute.

IV.2. Caracterizarea salciei pe componente

Rezultatele din Figura 21 arată un conținut mai mare de derivați salicilici în scoarța de salcie decât în ramura copacului și în frunze derivații salicilici au fost nedeterminabili, atât pentru salcia tânără, cât și pentru cea matură.

În studiul de față, profilul fitochimic al extractelor hidroetanolicе din ramura, frunzele și scoarța de *Salix alba* a fost analizat utilizând spectrofotometria UV-Vis. Rezultatele analizelor calitative și cantitative sunt rezumate în Figurile 25-28.

Conform studiilor raportate, conținutul polifenolic total din scoarța de *Salix alba* este între 20 și 50 mg/g, astfel încât valorile obținute în studiul nostru, 53,2 mg/g și 63,1 mg/g pentru scoarța de salcie tânără, respectiv matură sunt peste acest interval (Ramos, et al., 2019) (Durak & U., 2014) (Sulaiman G. , Hussien, Marzoog, & Awad, 2013) (Kenstavičienė, Nenortienė, Kiliuvienė, & Ževžikovas, 2009) (Toiu, Vlase, Oniga, Benedec, & Tămaș, 2011). Polifenolii au valori similare în scoarță și în frunze, dar valori mult mai mici în ramura copacului, de asemenea, rezultatele sunt mai mari pentru salcia matură.

În plus față de conținutul polifenolic total, metodele spectrofotometrice sunt, de asemenea, utilizate în determinarea conținutului total al grupurilor individuale de compuși fenolici, cum ar fi taninurile și flavonele totale. Determinarea flavonelor arată un conținut mai mare la salcia tânără, cea mai mare valoare a fost obținută pentru frunze (Piatczak, Dybowska, Płuciennik, & Kosla, 2020).

Cel mai mic conținut de taninuri a fost obținut pentru ramura de salcie - o valoare egală pentru salcia tânără și matură - s-au înregistrat valori mai mari, așa cum era de așteptat, pentru probele de scoarță de salcie.

Rezultatele pentru activitatea antioxidantă a extractelor de salcie indică influența polifenolilor și flavonelor prezenți în fiecare extract. Atât pentru ramura de salcie tânără, cât și pentru cea matură, activitatea antioxidantă este foarte scăzută în comparație cu celelalte probe, de asemenea, cele mai mari valori sunt înregistrate pentru probele de coajă de salcie (Tyśkiewicz, et al., 2019) (Sulaiman G. M., Hussien, Marzoog, & Awad, 2013).

Tabelul 9. Sumar al caracterizării salciei tinere și mature

Probă	Determinare				
	Derivați salicilici totali, expr. în salicină, mg/g	Polifenoli totali expr. în acid galic, mg/g	Flavone totale expr. în rutin, mg/g	Taninuri totale expr. în pirogalol, mg/g	Activitatea antioxidantă, mg equiv. Trolox/g probă
SALCIE tânără - ramuri	0,5	10,9	0,7	1,9	29,8
SALCIE tânără – scoarță	16,0	53,2	4,3	16,6	288,5
SALCIE tânără - frunze	ND	53,2	8,1	9,1	201,5
SALCIE matură - ramuri	0,08	21,3	0,4	1,9	22,1
SALCIE matură – scoarță	19,3	63,1	2,7	18,8	343,0
SALCIE matură - frunze	ND	67,2	7,8	11,3	256,2

IV.3. Caracterizarea scoarței de salcie prin diferite tehnici de extracție

În prezentul studiu, metodele de extracție la reflux pe baie de apă, extracția cu ultrasunete și extracția la termoreactor au fost comparate cu scopul de a optimiza timpul de extracție și cea mai potrivită metodă pentru un randament ridicat de derivați salicilici din scoarța de salcie.

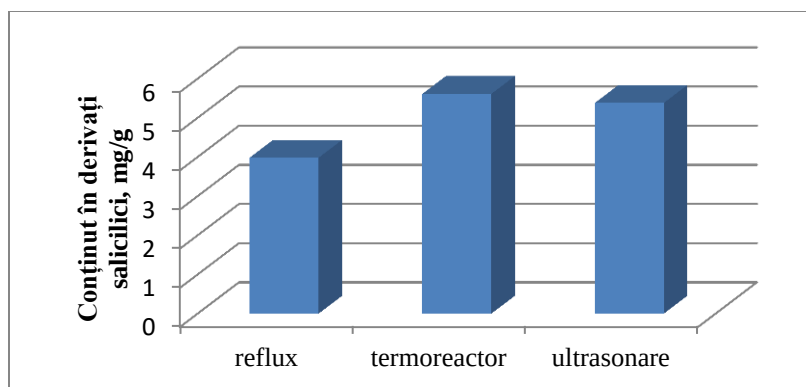


Fig. 32. Conținutul în derivați salicilici (mg/g) al scoarței de salcie prin diferite tehnici de extracție

Rezultatele obținute în urma determinării derivaților de salicină din scoarța de salcie prin diferite modalități de extracție sunt prezentate în Figura 32. Acestea indică valori asemănătoare pentru extracția prin ultrasonare (5.38 mg/g), cât și pentru extracția efectuată la termoreactor, cu valori puțin mai mari pentru cea din urmă (5.61 mg/g). Diferența obținută poate fi pusă pe seama duratelor de extracție diferite, extracția pe baie de ultrasonare având loc pentru 30 de minute, față de extracția la termoreactor care a durat o oră. La extracția prin reflux pe baie de apă s-au obținut 3.98 mg/g derivați salicilici exprimați în salicină.

IV.5. Caracterizarea unor extracte vegetale cu efect antiinflamator

Fitoterapia are la bază efectul sporit care se poate obține prin acțiunea simultană a principiilor active din plante. Pentru ca principiile active să poată fi valorificate în sensul obținerii unei acțiuni biologice asupra organismului uman trebuie ca acestea să fie concentrate, să se regăsească în diferite forme fitoterapeutice (tincturi, siropuri, extracte, etc.) ușor de administrat.

Mi-am propus astfel obținerea unui extract vegetal care să aibă proprietăți antiinflamatoare și analgezice și care să acționeze eficient în ameliorarea durerilor articulare, a durerilor de cap, a reumatismului, a nevralgiilor, a durerilor menstruale, a durerilor musculare.

Pentru acest scop au fost selectate următoarele plante: salcie – scoarță (*Salix alba* cortex), rozmarin (*Rosmarinus officinalis* herba) și șovârf (*Origanum vulgare* herba), după efectuarea unor studii documentare preliminare.

Din punct de vedere al conținutului în derivați salicilici, am observat faptul că scoarța de salcie reprezintă cea mai bună sursă pentru salicină, alături de rozmarin și șovârf, iar compușii fenolici potențează efectul acestora. Acțiunea analgezică și antiinflamatoare a acestora se

datorează derivaților de alcool salicilic, numiți și salicilați, ale căror cantități variază între 1,5 și 11% în scoarța recoltată de pe ramurile tinere de salcie.

Pe lângă compușii terapeutic relevanți – derivații salicilici – dozați printr-o metodă HPLC, în materialul vegetal selectat au mai fost determinați spectrofotometric:

- polifenoli totali, exprimați în acid galic – folosind metoda Folin-Ciocalteu – și acid cafeic;
- flavone totale, exprimate în rutin;
- taninuri totale, exprimate în pirogalol.

Determinarea conținutului de principii active din materialele vegetale s-a efectuat după realizarea unor extracții specifice pentru analiza cantitativă, ținând seama de solubilitatea specifică a compușilor de interes.

În vederea optimizării conținutului de derivați salicilici din scoarță de salcie, a fost necesară și efectuarea unui studiu privind condițiile extractive ale acestora (mediul apos, hidroalcoolic, decoct, tinctură) din diferitele probe de scoarță de salcie (Figura 35).

Extractele obținute au fost apoi supuse analizei pentru identificarea principiilor active utilizând metode analitice care au la bază tehnici de cromatografie de lichide de înaltă performanță, spectrometrie UV-Vis și au condus la cuantificarea acestora.

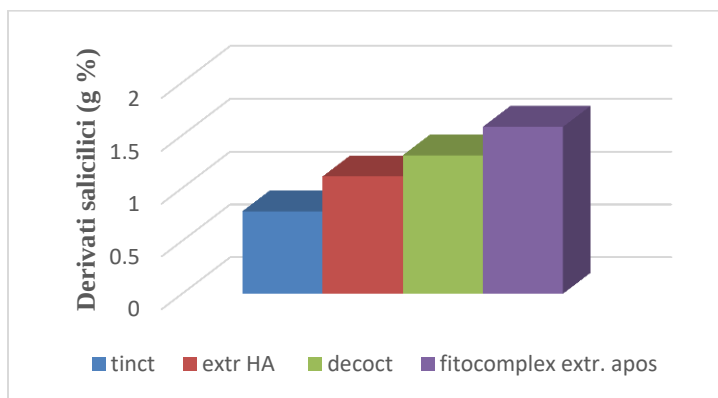


Fig. 35. Conținut în derivați salicilici (g%) pentru diferite condiții de extracție

Tabelul 12. Principii active din diferite extracte de salcie, rozmarin și șovârf

Tip Extract	Determinare			
	Derivați salicilici totali, expr. în salicină, g%	Polifenoli totali expr. în acid galic, g%	Flavone totale expr. în rutin, g%	Taninuri totale expr. în pirogalol, g%

Tinctură	0,7	3,4	2,2	0,4
Extract hidroalcoolic	1,1	5,2	3,8	0,5
Decoct	1,2	5,5	3,8	0,7
Extract apos (fitocomplex A)	1,45	7,0	5,2	1,0

Am identificat ca fiind cea mai eficientă extracția în mediu apos, pentru că dizolvă și extrage majoritatea componentelor active – în mod special glicozide, taninuri – la un randament ridicat. Extracția a fost realizată dintr-un amestec de plante medicinale: salcie, rozmarin, șovârf. Parametrii de lucru au fost următorii: material vegetal – adus la un grad avansat de mărunțire; metoda de extracție – macerare; solventul de extracție – apă purificată; temperatura de extracție – temperatura camerei; concentrație extract – 10% (g plantă/mL apă); timp de extracție – 24 ore.

A rezultat un lichid opalescent, de culoare brun-roșcat, cu miros caracteristic și gust puternic amar (fitocomplexul A).

Pentru realizarea acestui nou produs s-a folosit în prima etapă un intermediar sub formă de extract apos din scoarță de salcie și părți aeriene de rozmarin și șovârf, cu o compoziție bogată în substanțe utile pentru scopul propus.

Din studiile efectuate asupra eficienței fitocomplexului A, s-a constatat că este necesară creșterea conținutului în derivați salicilici, cu contribuție importantă pentru scopul urmărit, de la circa 1,4% la minimum 2,5%.

În acest sens s-au efectuat noi cercetări asupra scoarței de salcie în funcție de diferitele zone ale țării și anotimpuri.

Pentru selectarea surselor de scoarță de salcie cu conținut bogat în derivați salicilici, s-au folosit mai multe probe de scoarță de salcie, din diferite zone geografice ale țării, în diferite stadii de dezvoltare: tânără (2-3 ani) și matură, recoltate primavara și vara (Figura 36).

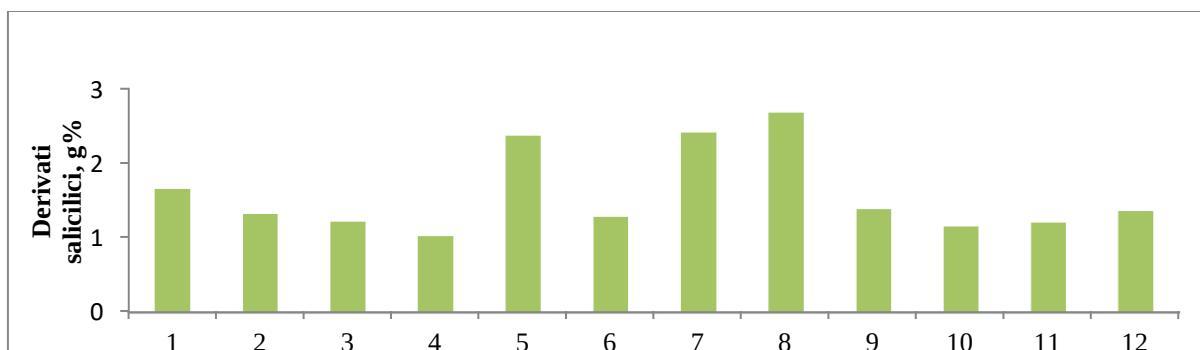


Fig. 36. Variația conținutului în derivați salicilici (g %) pentru diferite probe de scoarță de salcie

Tabelul 13. Descriere probe scoarță de salcie

Nr. Crt.	Probă	Zonă de proveniență	Perioada recoltării
1.	Scoarță salcie matură	Furculești, Teleorman	Septembrie 2017
2.	Scoarță salcie matură	Făgăraș, Brașov	Iulie 2017
3.	Scoarță salcie matură	Brașov, Brașov	Iunie 2017
4.	Scoarță salcie matură	Breaza, Prahova	Iulie 2017
Nr. Crt.	Probă	Zonă de proveniență	Perioada recoltării
5.	Scoarță salcie tânără	Furculești, Teleorman	Martie 2018
6.	Scoarță salcie tânără	Făgăraș, Brașov	Martie 2018
7.	Scoarță salcie tânără	Furculești, Teleorman	Aprilie 2018
8.	Scoarță salcie tânără	Furculești, Teleorman	Mai 2018
9.	Scoarță salcie tânără	Hofigal, București	Mai 2018
10.	Scoarță salcie matură	Furculești, Teleorman	Iulie 2018
11.	Scoarță salcie matură	Făgăraș, Brașov	Iulie 2018
12.	Scoarță salcie tânără	Făgăraș, Brașov	Iunie 2018

Studiile s-au efectuat direct pe fitocomplexul A obținut din diferite probe de scoarță de salcie, descrise în Tabelul 13.

Din datele prezentate se observă că materialul vegetal corespunzător compoziției necesare fitocomplexului A este scoarța de salcie tânără (2-3 ani), din zona de Sud a țării (Furculești-Teleorman), recoltată primavara, cu un conținut de min. 2,68% în derivați salicilici exprimați în salicină. Ca urmare, folosirea scoarței de salcie de calitate superioară la prepararea noului fitocomplex a condus la obținerea unui fitocomplex activ B, sub formă de extract apos, îmbunătățit, având un conținut de min. 2,5% derivați salicilici exprimați în salicină, care a fost analizat și caracterizat din punct de vedere fizico-chimic (Tabelul 14).

Determinarea conținutului de principii active din extractele vegetale s-a efectuat după realizarea unor extracții specifice pentru analiza cantitativă, ținând seama de solubilitatea specifică a compușilor de interes.

Extractul obținut a fost apoi supus analizei pentru identificarea principiilor active utilizând metode analitice care au la bază spectrometrie UV-Vis și au condus la cuantificarea acestora, astfel fiind dozate următoarele clase de compuși:

- polifenoli totali, exprimați în acid galic – folosind metoda Folin-Ciocalteu – și acid cafeic;
- flavone totale, exprimate în rutin;
- taninuri totale, exprimate în pirogalol.

În această etapă am realizat un studiu al derivaților salicilici exprimați în salicină din extractul vegetal natural folosind metoda HPLC, adaptând metoda de dozare a derivaților salicilici descrisă în Farmacopeea Europeană Ediția a 9-a. Astfel am identificat și am determinat concentrația de derivați salicilici, după hidroliza acidă a extractului metanolic în mediu bazic preparat din materialele vegetale.

Tabelul 14. Caracteristici fizico-chimice ale extractului vegetal

Nr. Crt.	Produs	Caracteristici	Rezultate
1.	Extract apos de salcie, rozmarin și șovârf	Conținut în polifenoli totali exprimați în acid galic, %	8,00
		Conținut în flavone	5,35

		totale exprimate în rutin, %	
		Conținut în taninuri totale exprimate în pirogalol, %	1,75
		Conținut în derivați salicilici, exprimați în salicină, %	2,68

Rezultatele obținute confirmă faptul că extractele vegetale au în compoziție substanțe chimice – derivați salicilici – care le conferă proprietăți antiinflamatoare și analgezice.

CAPITOLUL V – CARACTERIZAREA PLANTELOR MEDICINALE ȘI A EXTRACTELOR FOLOSITE ÎN AMELIORAREA BOLILOR CARDIOVASCULARE

V.1. Obținerea extractelor din talpa găștei și păducel

Extracția compușilor fenolici din talpa găștei (herba), păducel (fructus) și păducel (flos și folie) a fost obținută prin metode convenționale de extracție, și anume macerare, percolare (Figura 40) și reflux, condițiile experimentale fiind sumarizate în Tabelul 15.

Tabelul 15. Condiții experimentale pentru cele trei metode convenționale utilizate

Tehnica de extracție			
	Macerare	Percolare	Reflux
Solvent utilizat	soluție etanolică 30%/50%/70%	soluție etanolică 30%/50%/70%	soluție etanolică 30%/50%/70%
Raport plantă:solvent	1:7	1:15	1:10
Temperatură	Temperatura camerei	Temperatura camerei	82-86°C
Presiune aplicată	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică
Timp	6 zile	6 zile	30 minute

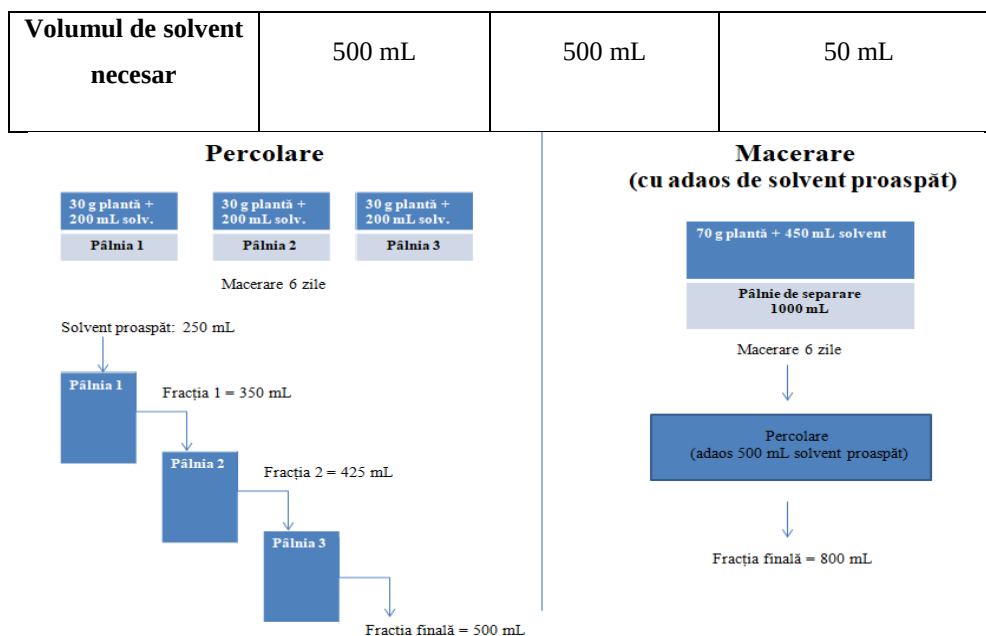


Fig. 40. Schemă explicativă pentru extracția prin percolare și macerare

V.2. Caracterizarea extractelor din talpa gâștei și păducel

În capitolul prezent a fost evaluată corelația dintre conținutii polifenolici totali ai lui *L. cardiaca* și *C. monogyna* și proprietățile bioactive ale extractelor lor hidroetanolic.

În studiul de față, profilul fitochimic al extractelor hidroetanolic de talpa gâștei (herba), păducel (fructus) și păducel (flos și foliae) a fost analizat utilizând spectrofotometria UV-Vis. Rezultatele analizelor calitative și cantitative sunt rezumate în Figurile 41-50. Datele sunt raportate ca media a trei analize.

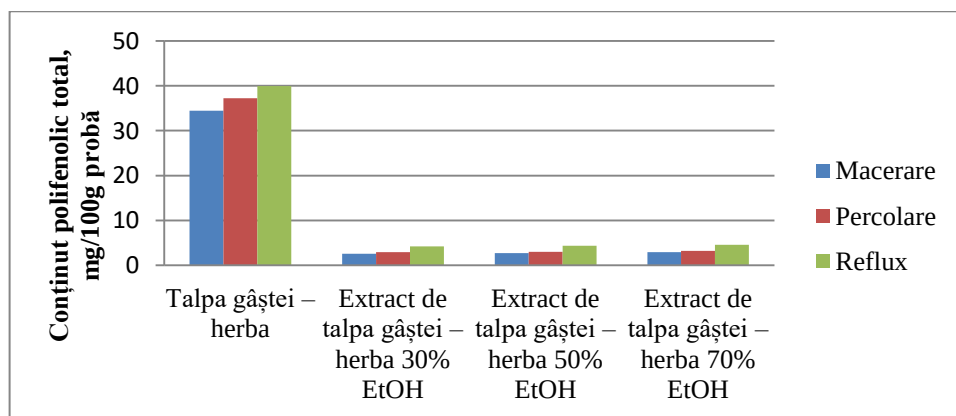


Fig. 41. Conținutul polifenolic total din talpa gâștei – herba și talpa gâștei – extract, exprimat ca acid galic

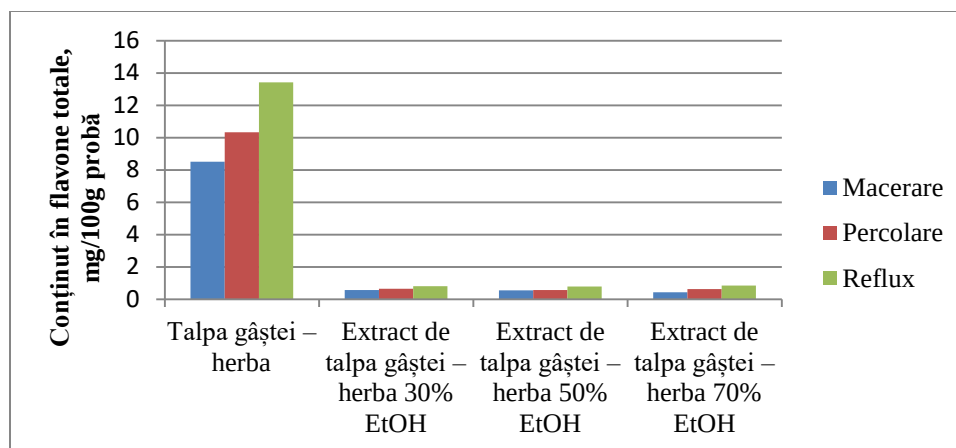


Fig. 42. Conținut în flavone totale din talpa găștei – herba și talpa găștei – extract, exprimat ca rutin

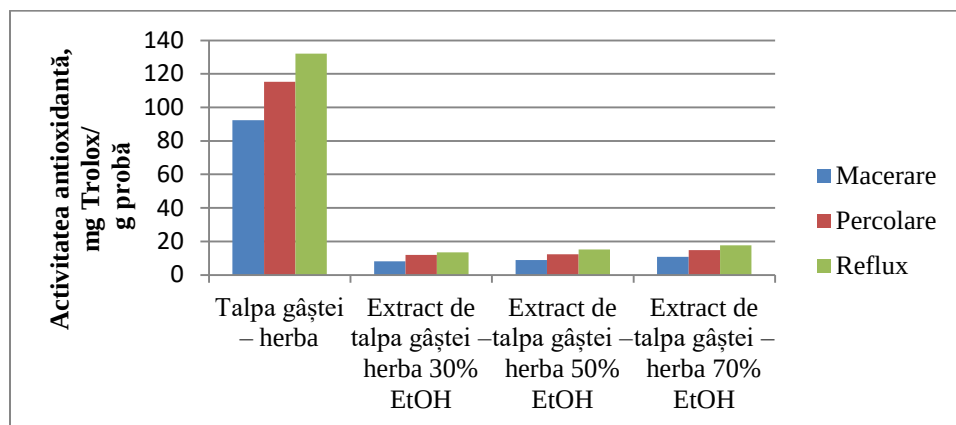


Fig. 43. Activitatea antioxidantă a talpa găștei – herba și talpa găștei – extract, exprimată ca echiv. Trolox

Figurile 41-43 descriu rezultatele pentru talpa găștei – herba și pentru extractele de talpa găștei pentru polifenoli totali, flavone totale și pentru activitatea antioxidantă. Conform studiilor raportate, conținutul polifenolic total din extractele de talpa găștei este cuprins între 0,4 și 7,3 mg/100 g probă, astfel încât valorile obținute în studiul nostru sunt peste acest interval (Fierascu, et al., 2019). Cele mai bune rezultate s-au obținut pentru extractele în etanol 70% (conținut total polifenolic - aproximativ 5 mg/100 g probă, conținut total de flavonoizi - aproximativ 1 mg/100 g probă). Refluxul cu 70% etanol este cea mai potrivită metodă de extracție pentru talpa găștei – herba întrucât au fost obținute cele mai mari conținuturi de polifenoli totali, flavonoide totale, compuși activi majori, și cea mai puternică activitate antioxidantă.

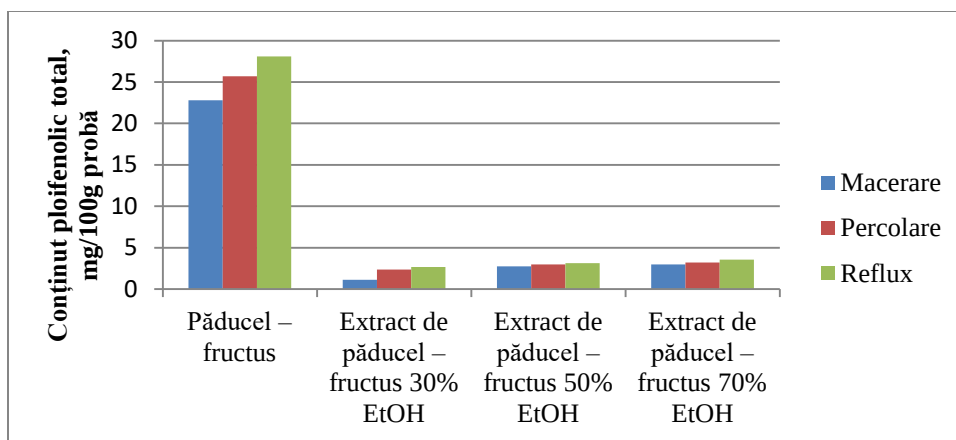


Fig. 44. Conținutul polifenolic total din păducel – fructus și păducel – extract, exprimat ca acid galic

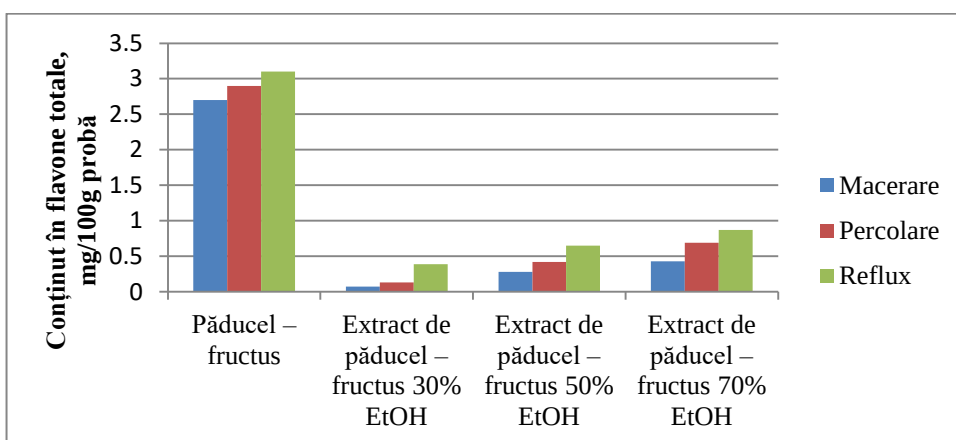


Fig. 45. Conținutul în flavone totale din păducel – fructus și păducel – extract, exprimat ca rutin

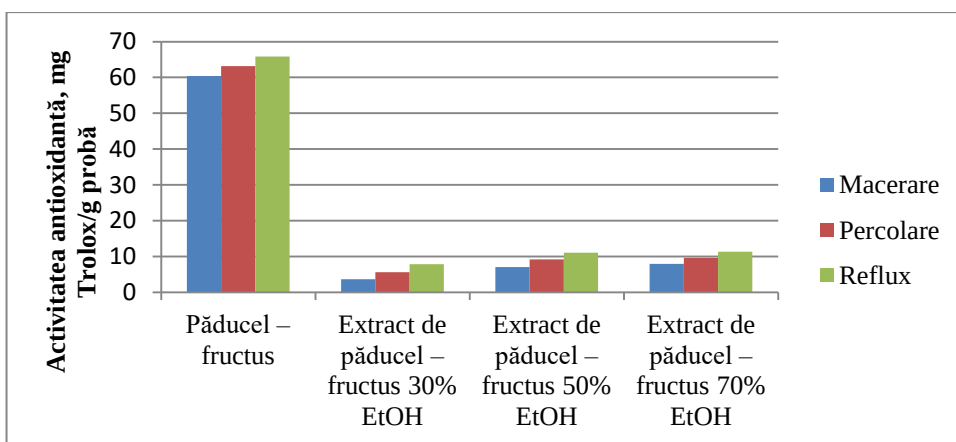


Fig. 46. Activitatea antioxidantă a păducelului – fructus și a păducelului – extract, exprimată ca echiv. Trolox

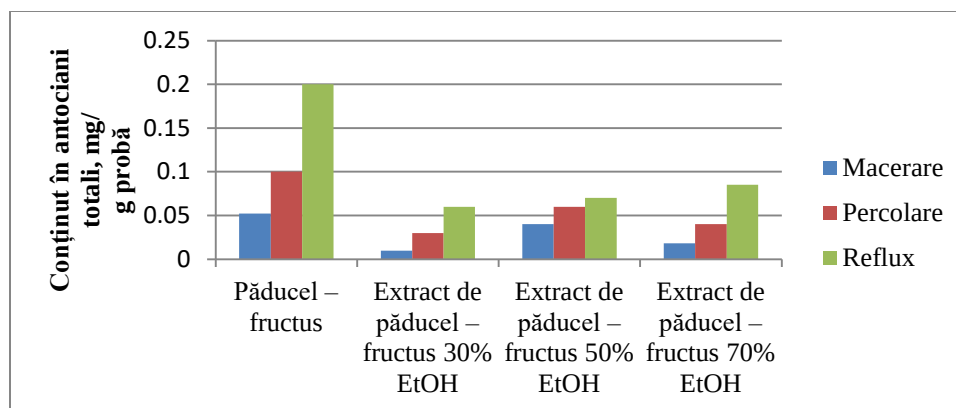


Fig. 47. Conținut în antociani totali din păducel – fructus și păducel – extract, exprimat în clorură de cianidin 3-O-glucozid

Figurile 44-47 prezintă rezultatele obținute pentru păducel - fructus și păducel - extract pentru polifenoli totali, flavone totale, antociani totali și activitatea antioxidantă. Polifenolii au valori similare în extractele de etanol de 50% și 70%, dar valori mult mai mici în extractele de etanol de 30%, de asemenea, rezultatele sunt mai mari pentru extractele obținute la reflux. În plus față de conținutul polifenolic total, metodele spectrofotometrice sunt, de asemenea, utilizate în determinarea conținutului total al grupurilor individuale de compuși fenolici, cum ar fi flavonele totale și conținutul total de antociani exprimați în clorură de cianidin 3-glucozid. Determinarea flavonelor arată rezultate mai bune pentru extractele obținute prin reflux, variind de la 0,4 la 0,8 mg/100 g probă. Cât despre conținutul total de antociani din extractele de păducel - fructus, putem remarca o mai bună extracție prin percolare în soluție de etanol 50% (probă 0,06 mg/g) și prin reflux în soluție de etanol 70% (probă 0,09 mg/g).

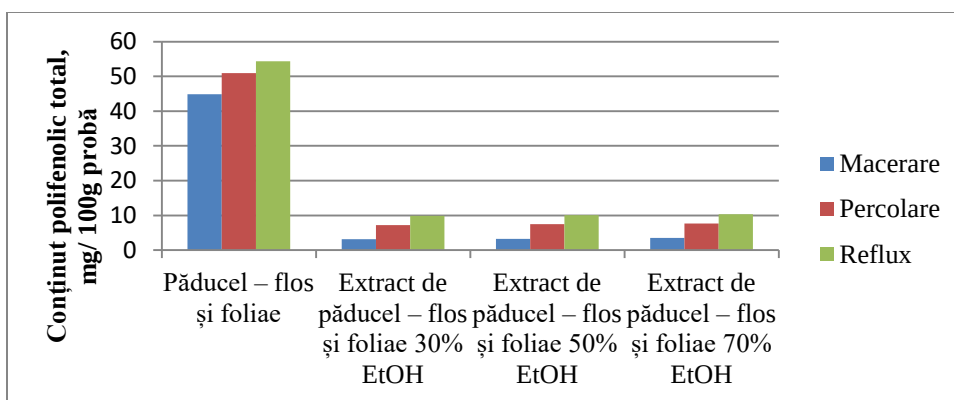


Fig. 48. Conținutul polifenolic total din păducel – flos și foliae și păducel – extract, exprimat ca acid galic

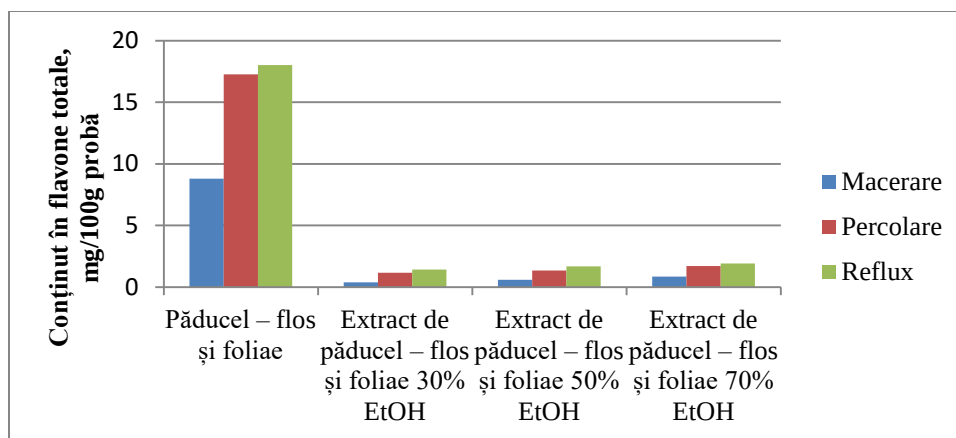


Fig. 49. Conținutul în flavone totale din păducel – flos și foliae și păducel – extract, exprimat ca rutin

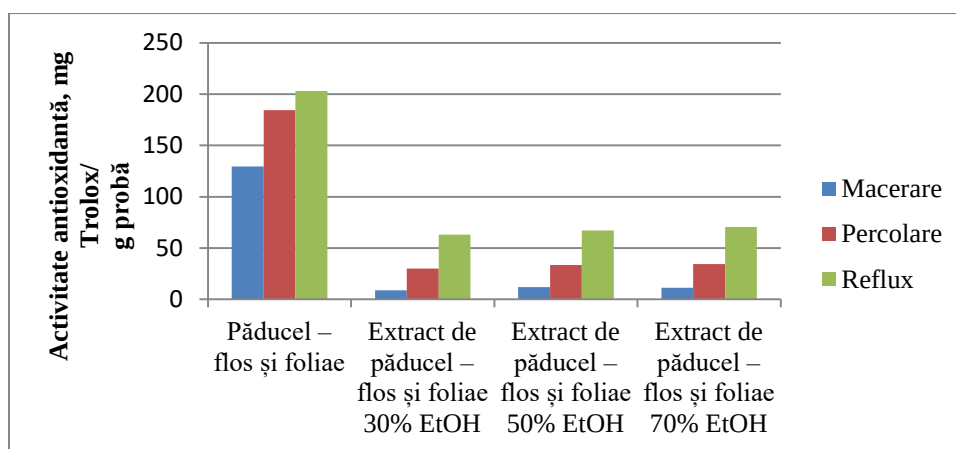


Fig. 50. Activitatea antioxidantă a păducelului – flos și foliae și a păducelului – extract, exprimată ca echiv. Trolox

Figurile 48-50 descriu rezultatele obținute pentru păducel - flos și foliae și extractele din păducel - flos și foliae pentru polifenoli totali, flavone totale și pentru activitatea antioxidantă. Au valori similare indiferent de metoda de extracție aplicată, cu valori mai mari pentru conținutul total polifenolic de aproximativ 10 mg/100g probă.

Extracțele hidroetanolicе de păducel (fructus), păducel (flos și foliae) și talpa găștei (herba) prezintă un potențial antioxidant promițător, evaluat prin testul CUPRAC, ordinea potențialelor fiind păducel (flos și folii)>talpa găștei (herba)>păducel (fructus) și valori cuprinse între 3,6 și 70,5 mg Trolox/g probă. Rezultatele obținute pentru activitatea antioxidantă a extractelor studiate indică influența polifenolilor și flavonelor prezente în fiecare extract.

În general, se poate afirma în mod clar că activitățile farmacologice ale plantelor medicinale examinate utilizate în mod tradițional nu pot fi atribuite unui singur compus activ, ci trebuie considerate ca efectul întregului spectru al constituenților lor fenolici.

CAPITOLUL VI – CARACTERIZAREA PLANTEI MEDICINALE ȘI A EXTRACTELOR CU EFECT HEPATOPROTECTOR

VI.1. Obținerea extractelor din armurariu

Silimarina este un compus polifenolic hepatoprotector care se izolează din armurariu. Silimarina reprezintă un amestec de flavonolignani care include izomerii: silibinină, silicristină, silidianină, și are rolul de a proteja celulele de daunele cauzate de radicalii liberi.

Conținutul și compoziția silimarinei în plantele de armurariu sunt influențate de adâncimea de însămânțare, distanța dintre plante, îngrășămintele, recoltare și tratament post-recoltare. Pentru a compara rezultatele obținute la extracția compușilor de interes, s-au aplicat în paralel două metode de extracție, obținând astfel tinctură și extract apos din fructe de armurariu aflate la diferite stadii de maturitate. Fructele de armurariu au fost recoltate lunar în perioada mai-octombrie 2019 (Tabelele 16, 17).

Activitatea antioxidantă a materiei prime poate depinde de structura chimică a compușilor biologic activi din plante, precum și de modul de preparare a extractului, adică metoda de extracție, inclusiv solvenții utilizați. Compoziția chimică și polaritatea solventului utilizat în extracție sunt factori importanți în determinarea capacității antioxidante deoarece pot afecta mecanismul transferului atomului de hidrogen (HAT) (Nowak, Florkowska, Zielonka-Brzezicka, Duchnik, Muzykiewicz, & Klimowicz, 2021).

Tabelul 16. Compoziția extractului apos de armurariu

Extract apos de armurariu	Cantitatea, g
Fructe degresate armurariu (<i>Silybum marianum</i> L.)	300
Apă purificată	2400
Total (după concentrare)	120

Tabelul 17. Compoziția tincturii de armurariu

Tinctură de armurariu	Cantitatea, g
-----------------------	---------------

Fructe degresate armurariu (<i>Silybum marianum</i> L.)	20,00
Etanol 96 % (v/v) diluat la 70% cu apă purificată	q.s.ad. 100,00

VI.2. Caracterizarea extractelor din armurariu

În studiul de față, profilul fitochimic al fructele nedegresate/degresate și al extractelor obținute din fructe degresate de *Silybum marianum* a fost analizat utilizând atât spectrofotometria UV-Vis pentru determinarea polifenolilor totali exprimați în acid galic și a flavonelor totale exprimate în rutin, cât și analiza HPLC a conținutului de silimarină totală exprimată în silibinină. Rezultatele analizelor calitative și cantitative sunt rezumate în Figurile 51-54.

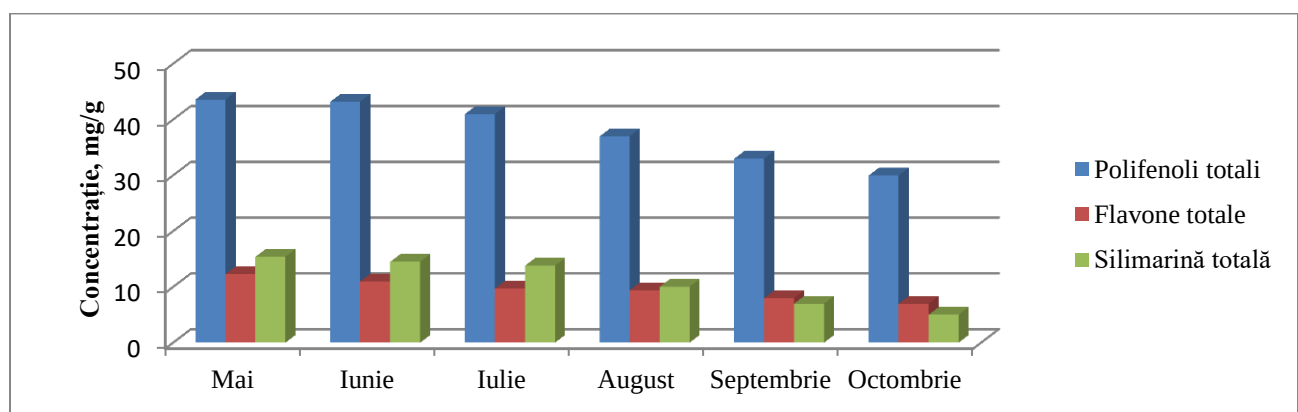


Fig. 51. Conținutul în compuși polifenolici din fructe nedegresate de armurariu, mg/g

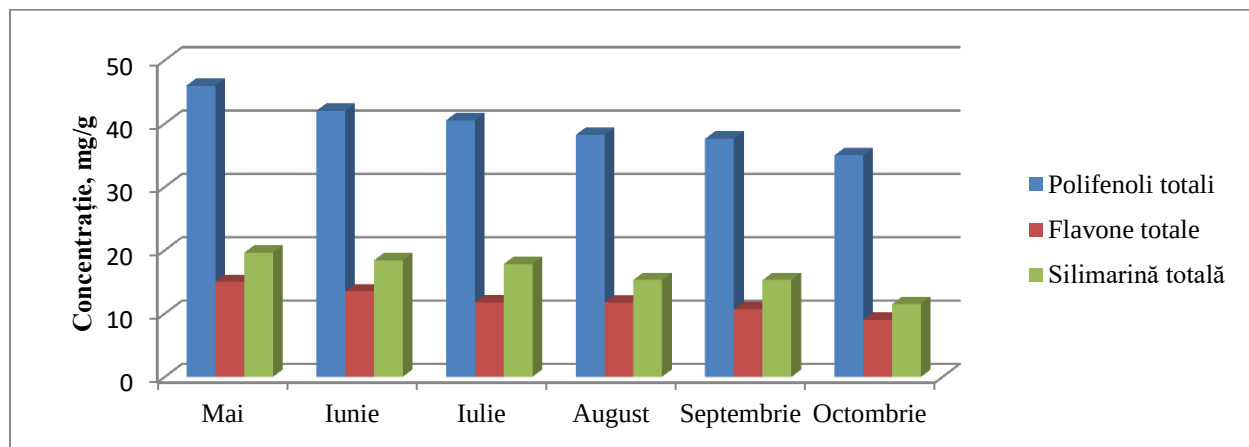


Fig. 52. Conținutul în compuși polifenolici din fructe degresate de armurariu, mg/g

Activitatea antioxidantă a acestei plante depinde de maturitatea materiei prime, unde cel mai înalt nivel s-a observat la fructele imature (recoltate în perioada mai-iunie), apoi la cele intermediare (recoltate în perioada iulie-august), în timp ce cel mai scăzut s-a observat la cele cu maturitate deplină (recoltate în perioada septembrie-octombrie). Polifenolii sunt componente ale

plantelor cu capacitate antioxidantă mare și ar putea juca un rol important în activitatea hepatoprotectoare. În plus, concentrația de polifenoli se poate corela foarte mult cu activitatea antioxidantă, așa cum s-a demonstrat în fructele de *Silybum marianum*. În studiul prezent, în majoritatea cazurilor, s-au găsit conexiuni semnificative între capacitatea antioxidantă determinată și conținutul de compuși polifenolici.

După cum se observă din Figurile 51-52, rezultatele obținute în urma determinărilor spectrofotometrice și HPLC sunt mai mari pentru fructele degresate de armurariu față de fructele nedegresate, așa cum era de așteptat, privind conținutul de polifenoli totali și de silimarină totală; în cazul flavonelor totale, rezultatele obținute pentru probele de fructe de armurariu sunt similare, având valori cuprinse în intervalul 7-12,3 mg/g – fructe nedegresate și 9-15 mg/g – fructe degresate. Concentrația maximă în compuși polifenolici este atinsă în lunile mai-iunie, aceasta fiind cea mai potrivită perioadă de extracție pentru fructele de armurariu.

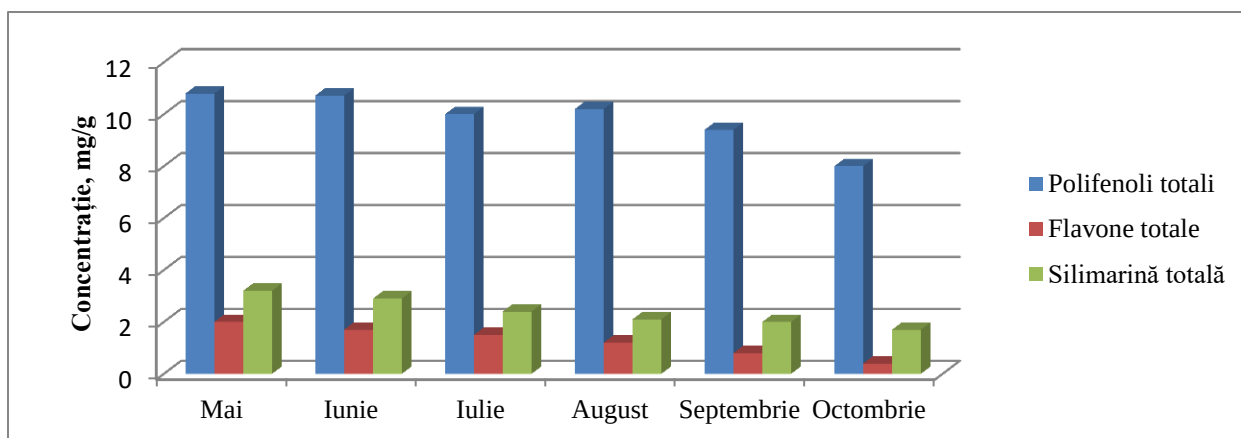


Fig. 53. Conținutul în compuși polifenolici din extractul apos de armurariu, mg/g

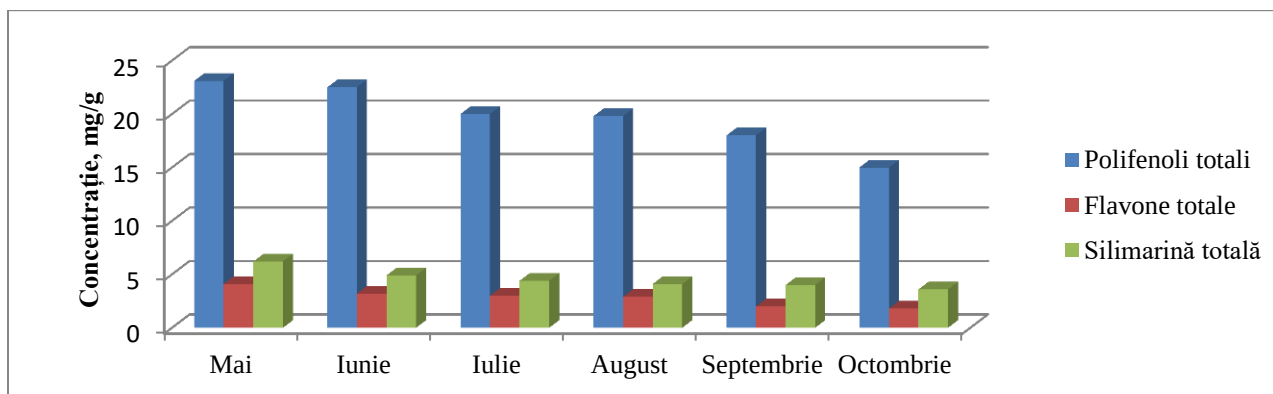


Fig. 54. Conținutul în compuși polifenolici din tinctura de armurariu, mg/g

Figurile 53-54 descriu conținutul în compuși polifenolici din extractul apos și din tinctura de armurariu. Astfel, rezultatele obținute pentru cele două tipuri de extracte arată un conținut mai ridicat în polifenoli totali pentru tinctura de armurariu față de extractul apos din fructe de armurariu, având valori cuprinse în intervalul 15-23,1 mg/g, respectiv 8-10,8 mg/g. Analiza HPLC arată un conținut de aproximativ două ori mai mare de silimarină totală exprimată în silibinină în tinctura de armurariu prin comparație cu extractul apos din fructe de armurariu, lucru care confirmă eficiența crescută a extracției cu soluții hidroalcoolice a compușilor polifenolici. De asemenea, conținutul cel mai ridicat în flavone totale a fost observat în cazul tincturii și a extractului apos din fructe degresate de armurariu colectate în luna mai, respectiv 4,1 și 2 mg/g.

Activitatea antioxidantă a extractelor din fructe de armurariu a fost confirmată de mulți autori (Chambers, și alții, 2017) (Lucini, și alții, 2016) (Malinowska, 2017). Extracția materiei prime poate fi realizată atât prin metode clasice, cât și prin metode recent dezvoltate. Metoda de extracție selectată pentru acest studiu a fost extracția Soxhlet, aceasta fiind o tehnică standard folosită de zeci de ani, frecvent aplicată ca referință pentru a evalua eficacitatea altor metode. Extracția Soxhlet este considerată a fi eficientă, cu toate acestea, dezavantajele sale sunt consumul relativ mare de solvenți și timpul de extracție destul de lung.

Scopul acestui studiu a fost de a evalua capacitatea antioxidantă a fructelor de armurariu la diferite stadii de maturitate și a extractelor obținute din acestea: extract apos și tinctură. Rezultatele obținute pentru activitatea antioxidantă a extractelor studiate indică influența polifenolilor și flavonelor prezente în fiecare extract. Astfel rezultatele din Figurile 59-62 arată o valoare crescută a activității antioxidante pentru fructele degresate de armurariu, cu un maxim de 258 mg Trolox/g probă pentru fructele recoltate în luna mai; fructele nedegresate de armurariu au activitate antioxidantă cu valori cuprinse în intervalul 156-230 mg Trolox/g probă, valori mai scăzute decât în cazul fructelor degresate. Putem observa o tendință de scădere semnificativă în timp a capacității antioxidante în cazul ambelor tipuri de probe, ceea ce indică luna mai ca fiind luna cea mai potrivită pentru recoltarea fructelor de armurariu.

Extracția folosind alcool etilic ca solvent de extracție s-a dovedit a fi mai eficientă decât extracția în mediu apos, rezultatele privind activitatea antioxidantă pentru tinctura de armurariu fiind cuprinse în intervalul 74-115 mg Trolox/g probă, iar cele pentru extractul apos 30-49 mg Trolox/g probă.

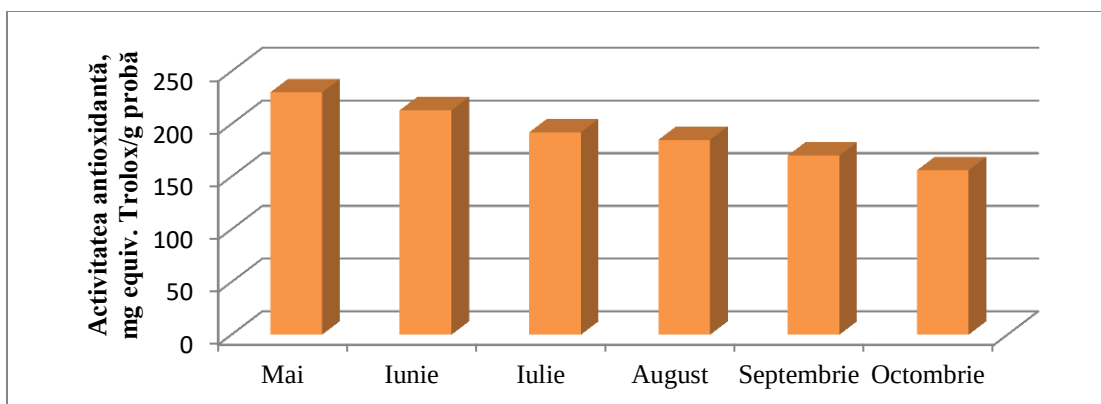


Fig. 59. Activitatea antioxidantă a fructelor nedegresate de armurariu, mg Trolox/g probă

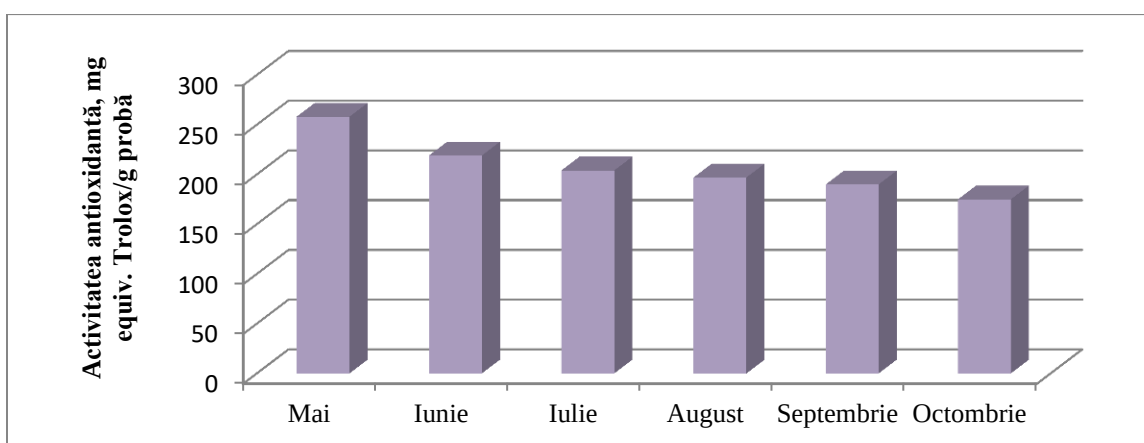


Fig. 60. Activitatea antioxidantă a fructelor degresate de armurariu, mg Trolox/g probă

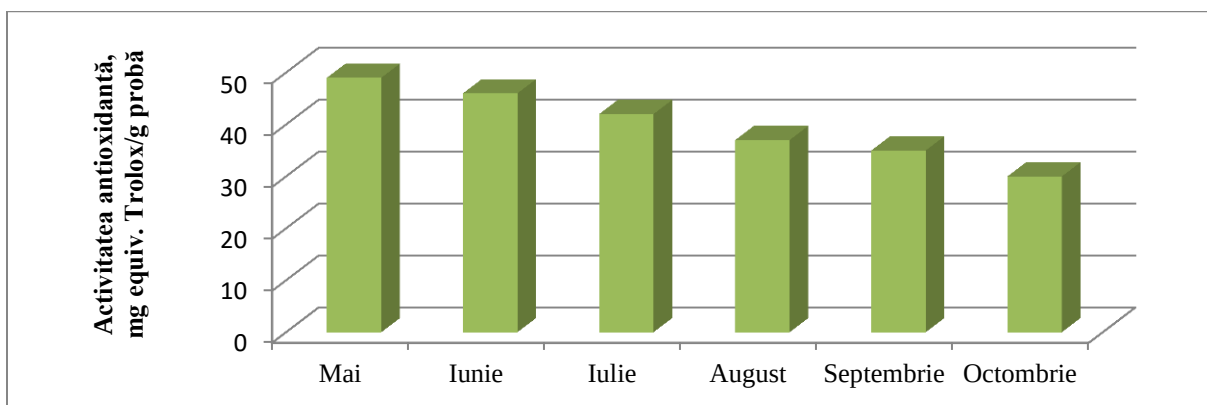


Fig. 61. Activitatea antioxidantă a extractului apos de armurariu, mg Trolox/g probă

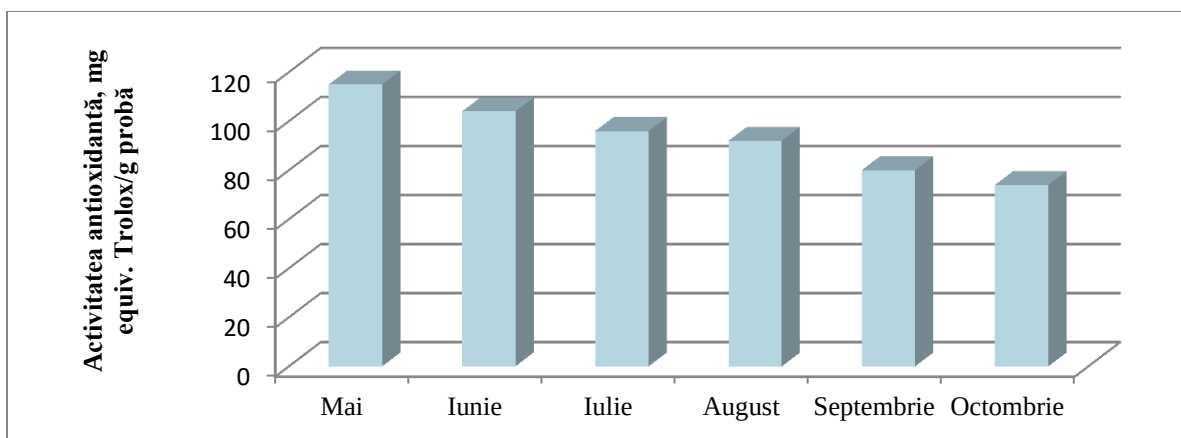


Fig. 62. Activitatea antioxidantă a tincturii de armurariu, mg Trolox/g probă

CONCLUZII GENERALE

Prezentul studiu cercetare a presupus investigarea compoziției a șase plante medicinale frecvent utilizate în ameliorarea inflamației, în ameliorarea bolilor cardiovasculare și cu efect hepatoprotector, și extractele obținute din aceste plante prin varierea unor parametri de extracție (metoda de extracție, concentrația solventului) pentru a maximiza conținutul în compuși de interes (anumite flavone și polifenoli, antocianine etc.).

Principalele obiective ale studiului au fost:

- obținerea și caracterizarea unor extracte din plante medicinale cu efect antiinflamator: salcie (*Salix alba*), rozmarin (*Rosmarinus officinalis*) și șovârf (*Origanum vulgare*);
- obținerea și caracterizarea unor extracte din plante medicinale folosite în ameliorarea bolilor cardiovasculare: talpa găștei (*Leonurus cardiaca*) și păducel (*Crataegus monogyna*);
- obținerea și caracterizarea unor extracte din armurariu (*Silybum marianum*), plantă medicinală cu efect hepatoprotector.

Astfel, având în vedere rezultatele experimentale obținute putem concluziona că:

- Substanțele biologic active obținute în urma extracției au fost identificate și dozate cantitativ prin metode moderne de analiză incluzând cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC), spectrofotometria UV-Vis și cromatografia de gaze (GC) cuplată cu spectrometria de masă (MS).
- Au fost elaborate metode spectrofotometrice UV-Vis pentru dozarea conținutului de polifenoli totali exprimați în acid galic, flavone totale exprimate în rutin, antociani exprimați în clorură de cianidin-3-glucozidă, taninuri exprimate în pirogalol și

determinarea activității antioxidante a plantelor selectate și a extractelor obținute din acestea.

- S-au comparat diverse metode de extracție și condițiile extractive ale diverselor componente ale salciei (ramuri, frunze și scoarță) pentru a obține extracte bogate în derivați salicilici, dar și alți compuși polifenolici, cu efect în ameliorarea stărilor de disconfort la nivelul articulațiilor și al mușchilor. Extracția în mediu apos s-a dovedit a fi cea mai eficientă. O bună sursă de derivați salicilici s-a dovedit a fi scoarța tânără de salcie, având concentrația cea mai mare în compușii de interes.
- Reziduul de scoarță de salcie rezultat în urma extracției a fost utilizat în continuare pentru extragerea suplimentară de principii active; tratamentul cu microunde a fost mai eficient decât cel cu ultrasunete – la 150°C s-au mai extras suplimentar 8.7% salicină (vs. cantitatea extrasă din materialul vegetal nesupus extracției).
- Eficiența tratamentului cu US sau cu MW în extracția suplimentară de principii active a fost testată și din punct de vedere al stabilității compușilor activi (derivați de salicină) la condițiile de tratament. S-a dovedit faptul că acești compuși sunt stabili la condițiile experimentale utilizate.
- Au fost selectate două plante cu conținut ridicat în compuși chimici care au efect benefic în ameliorarea simptomelor și efectelor neplăcute ale afecțiunilor cardiovasculare: talpa găștei (părți aeriene) și păducelul (frunze și flori; fruct).
- Au fost realizate extracte din cele două plante mai sus menționate prin macerare și percolare, folosind drept solvent soluții de alcool:apă (30:70, 50:50, respectiv 70:30 V/V), pentru a maximiza conținutul în compușii de interes (anumite flavone și polifenoli, antociani etc.).
- Extracția prin percolare s-a dovedit a fi mai eficientă decât extracția prin macerare, conținutul în compușii polifenolici fiind mai crescut pentru extractele obținute astfel. Fructele de păducel au un conținut scăzut în antociani.
- S-a realizat o evaluare comparativă a conținutului de compuși polifenolici și a activității antioxidante din fructe nedegresate/degresate de armurariu și a extractelor (extract apos și tinctură) obținute din fructele degresate, recoltate în perioada mai-octombrie.
- În urma acestei evaluări putem conclud că perioada optimă de recoltare a fructelor de armurariu este mai-iunie, astfel favorizând utilizarea eficientă a plantei.

- Conținutul ridicat în silimarină și alți compuși fenolici, activitatea antioxidantă, precum și efectele benefice asupra sănătății recomandă utilizarea extractului din fructe degresate de armurariu în formularea suplimentelor alimentare cu efect hepatoprotector.

CONTRIBUȚII ORIGINALE

Prin prezentul studiu au fost aduse contribuții importante în domeniul extractelor naturale din plantele medicinale selecționate din punct de vedere teoretic, experimental și aplicativ, cu potențial de a se constitui în produse valoroase pentru dezvoltarea unor suplimente alimentare.

Această lucrare de cercetare și-a propus să investigheze compoziția diferitelor părți componente ale salciei albe (*Salix alba*), care este frecvent utilizată în tratamentul tulburărilor dureroase de mobilitate, cum ar fi durerile de spate și artrita, datorită conținutului de derivați salicilici, taninuri și alți fenoli. Polifenolii totali, flavonele totale, taninurile totale și activitatea antioxidantă au fost determinate prin metode spectrofotometrice UV-Vis. Derivații salicilici au fost determinați printr-o metodă HPLC. Rezultatele arată o concentrație mai mare de salicină în proba de coajă matură de 20 mg/g. Polifenolii au valori similare în scoarță și frunze cu rezultate mai mari pentru salcia matură.

Am urmărit condițiile de extracție a polifenolilor și flavonelor din două plante medicinale cunoscute pentru rolul avut în ameliorarea bolilor cardiovasculare prin varierea unor parametri de extracție: concentrația de alcool etilic și metoda de extracție, având ca scop identificarea unei metode adecvate de extracție a celor două clase de compuși de interes fitoterapic. Extractele au fost preparate din păducel (fruct), păducel (frunze și flori) și talpa găștei (părți aeriene) prin macerare, percolare și reflux folosind soluții de alcool etilic:apă (30:70, 50:50, respectiv 70:30 V/V), pentru a maximiza conținutul în compușii de interes (anumite flavone și polifenoli, antocianine etc.). Cunoscând faptul că ambele clase de compuși au și activitate antioxidantă, am corelat rezultatele obținute pentru polifenoli și flavone cu activitatea antioxidantă.

Am efectuat un studiu privind perioada optimă de recoltare a fructelor de armurariu și influența solventului de extracție utilizat asupra extracției compușilor de interes (apă distilată sau soluție hidroalcoolică), prin identificarea și cuantificarea silimarinei și a altor compuși bioactivi prezenți în fructele de armurariu, și prin corelarea acestora cu activitatea antioxidantă.

RECOMANDĂRI ȘI DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE

Principalele direcții de studiu în vederea continuării cercetărilor în domeniu sunt:

- Extinderea cercetărilor aplicative ale extractelor naturale asupra altor materii prime vegetale.
- Demonstrarea efectelor farmacologice (antiinflamator, de ameliorare a bolilor cardiovasculare și hepatoprotector) prin testarea pe linii celulare a extractelor obținute în cadrul cercetării doctorale.
- Utilizarea compușilor biologic activi obținuți prin extracție din materialele vegetale selectate prin încapsularea în vehicule moderne pe bază de lipide pentru creșterea biodisponibilității.

LISTA PUBLICAȚIILOR REZULTATE ÎN URMA CERCETĂRII DOCTORALE

Articole publicate în reviste cotate ISI:

1. **A.M. Neagu**, C.M. Codreanu, V. Staicu, R. Stan. Bioactive polyphenolic compounds from Motherwort and Hawthorn hydroethanolic extracts. *Studia UBB Chemia*. **2021**, LXVI, 4, p. 123-132. (IF – 0,495)
DOI:10.24193/subbchem.2021.4.09
2. V. Staicu, C. Luntraru, I. Călinescu, C.G. Chisea-Negrilă, M. Vânătoru, **M. Neagu**, A.I. Gavrilă, I. Popa. Ultrasonic and Microwave Cascade Treatment of Medicinal Plant Waste. *Sustainability*. **2021**, 13, 12849. (IF – 3,251)
<https://doi.org/10.3390/su132212849>

Articole publicate în reviste indexate ISI:

1. **M. Neagu**, C. Luntraru, A. Bîra (Popescu), J. Tomescu, N. Ionescu (Bordei), R. Stan. Bioactive Phenolic Compounds from White Willow (*Salix alba*) Bark, Leaves and Branches. *U.P.B. Scientific Bulletin*, Series B. **2021**, 83, 3.

Comunicări la manifestări științifice internaționale:

1. International Symposium of Chemical Engineering and Materials – SICHEM 2018, 6-7 septembrie 2018, București
 - *A new phytotherapeutic product with healthpromoting effects in rheumatic ailments*
Autori: V. Carabela, V. Tamaș, G.C. Ivopol, **A.M. Neagu**, publicată în Bulletin of Romanian Chemical Engineering Society, Vol 5, No. 2, 2018
2. Simpozionul Internațional *Prioritățile chimiei pentru o dezvoltare durabilă* – PRIOCHEM, Ed. a XIV-a, 17-19 octombrie 2018, București

- *Research on various sources of Willow Bark in order to obtain plant extracts rich in salicylic derivatives* Autori: V. Carabela, V. Tamas, A. Suciu, **A.M. Neagu** - POSTER
3. 21st Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, 4-7 septembrie 2019, Constanța – Mamaia
 - *Natural intermediates for obtaining phytotherapeutic products beneficial in cardiovascular diseases* Autori: **A.M. Neagu**, V. Staicu, C. Luntraru, A. Popescu, M. Neagu – POSTER
 4. International Symposium of Chemical Engineering and Materials – SICHEM 2020, 17-18 septembrie 2020, București
 - *Characterization of white willow by HPLC and spectrophotometric methods* Autori: **A.M. Neagu**, C.M. Luntraru, A.F. Bîra (Popescu), J.A. Tomescu, N. Ionescu (Bordei) – POSTER
 5. 8th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2020, 26-27 noiembrie 2020, București
 - *Spectrophotometric and HPLC Determination of Phenolic Compounds from White Willow (Salix alba)* Autori: **A.M. Neagu**, C.M. Luntraru, A.F. Bîra (Popescu), J.A. Tomescu, N. Ionescu (Bordei) – POSTER

Mulțumiri:

1. Proiect POCU 380/6/13 "Sisteme de învățare bazate pe muncă prin burse antreprenor pentru doctoranzi și postdoctoranzi (SIMBA)", student doctorand antreprenor (2019-2021)

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Apak, R., Güçlü, K., Ozyürek, M., Karademir, S. E., & Altun, M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free Radical Research* , 39 (9), 949-961.
- Armendariz-Barragan, B., Zafar, N., Badri, W., Galindo-Rodríguez, S. A., Kabbaj, D., Fessi, H., și alții. (2016). Plant extracts: From encapsulation to application. *Expert Opinion on Drug Delivery* , 13 (8), 1165-1175.
- Assessment report on Salix [various species including S. purpurea L., S. daphnoides Vill., S. fragilis L.], cortex. (2017). *European Medicines Agency* .
- Bahorun, T., Troitin, F., Pommery, J., Vasseur, J., & Pinkas, M. (1994). Antioxidant activities of Crataegus monogyna extracts. *Planta Medica* , 60, 323-328.
- Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2010). Comparing the Composition and Bioactivity of Crataegus Monogyna Flowers and Fruits used in Folk Medicine. *Phytochemical Analysis* , 22, 181-288.

- Bernatoniene, J., Kopustinskiene, D., Jakstas, V., Majiene, D., Baniene, R., Kuršvietiene, L., și alții. (2014). The effect of *Leonurus cardiaca* herb extract and some of its flavonoids on mitochondrial oxidative phosphorylation in the heart. *Planta Medica* , 525-532.
- Bhat, S., Nagassampagi, B., & Sivakuma, M. (2005). *Chemistry of Natural Products*. Technology and Engineering.
- Bijak, M. (2017). Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.)—Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. *Molecules* , 22 (1942), 1-11.
- (2017). Bilberry Fruit, fresh, Monograph. În *European Pharmacopoeia 9th Edition vol. I* (p. 1173).
- Blainski, A., Lopes, G. C., & de Mello, J. C. (2013). Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules* , 18, 6852-6865.
- Chang, W.-T., Dao, J., & Shao, Z.-H. (2005). Hawthorn: Potential Roles in Cardiovascular Disease. *The American Journal of Chinese Medicine* , 33 (1), 1-10.
- Cheyrier, V. (2012). Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews* , 11 (2-3), 153–177.
- Dannhardt G, K. W. (2001). Cyclooxygenase inhibitors--current status and future prospects. *Eur J Med Chem.* , 36 (2), 109-26.
- de Sousa, L., de Andrade, S., Athayde, A., de Oliveira, C., de Sales, C., Madruga, M., și alții. (2013). Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic *Aspergilli* and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. (table grapes). *International Journal of Food Microbiology* , 165 (3), 312-318.
- European Union herbal monograph on *Silybum marianum* (L.) Gaertn., fructus. (2016). *European Medicines Agency* .
- Farmacopeea Română ed.X*. (1993). București: Ed. Medicală.
- Fierascu, R. C., Fierascu, I., Ortan, A., Fierascu, I. C., Anuta, V., Velescu, B. S., și alții. (2019). *Leonurus cardiaca* L. as a Source of Bioactive Compounds: An Update of the European Medicines Agency Assessment Report (2010). *BioMed Research International* , 2, 1-13.
- Greyn, J. (1998). COX-1 and COX-2 inhibition: current status and future perspective. *Acta Anaesthesiol Belg.* , 49 (3), 175-183.
- Hermenean, A., Stan, M., Ardelean, A., Pilat, L., CV, M., C, P., și alții. (2015). Antioxidant and hepatoprotective activity of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) seed oil. *Open Life Sciences* , 10, 225-236.
- ISO 14502-1:2005(E), Determination of substances characteristic of green and black tea – Part 1: Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. (fără an).
- Khayyal, M. T., El-Ghazaly, M. A., Abdallaha, D. M., Okpanyi, S. N., & Kelber, O. (2005). Mechanisms Involved in the Antiinflammatory Effect of a Standardized Willow Bark Extract. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* , 55 (11), 677-687.
- Milk thistle fruit Monograph*. (2017). *European Pharmacopoeia*.

Nowak, A., Florkowska, K., Zielonka-Brzezicka, J., Duchnik, W., Muzykiewicz, A., & Klimowicz, A. (2021). THE EFFECTS OF EXTRACTION TECHNIQUES ON THE ANTIOXIDANT POTENTIAL OF EXTRACTS OF DIFFERENT PARTS OF MILK THISTLE (SILYBUM MARIANUM L.). *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* , 20 (1), 37-46.

Ramos, P., Moreirinha, C., Silva, S., Costa, E., Veiga, M., Coscueta, E., și alții. (2019). The Health-Promoting Potential of Salix spp. Bark Polar Extracts: Key Insights on Phenolic Composition and In Vitro Bioactivity and Biocompatibility. *Antioxidants* , 8, 609.

Sadowska, B., Micota, B., Rózalski, M., Redzynia, M., & Rózalski, M. (2017). The immunomodulatory potential of Leonurus cardiaca extract in relation to endothelial cells and platelets. *Innate Immunity* , 23, 285-295.

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga, L. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* , 8 (1), 1-10.

(2017). Willow Bark Monograph. În *European Pharmacopoeia 9th Edition*, vol. I (pg. 1561-1562).