

CERCETĂRI FITOCHIMICE PRELIMINARE ASUPRA UNOR SPECII DE *SENECIO*

PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL RESEARCHES CONCERNING SOME *SENECIO* SPECIES

DAN-GEORGE MOGOȘANU, ION TIȚĂ

Abstract

Preliminary phytochemical analysis, by simple reaction or using gas-chromatography, was made for the identification of active principles from the aerial parts of some *Senecio* species harvested from Oltenia region - *S. jacobaea*, *S. vernalis* and *S. vulgaris*, as follows: volatile oil, sterols, triterpenes, carotenoids, lipids, pyrrolizidine alkaloids, flavonosides, flavone aglycones, coumarins, catechic tannins, heteroglycans, sugars, reducing compounds.

Cuvinte cheie: *Senecio* sp., cercetări fitochimice preliminare

Key words: *Senecio* sp., preliminary phytochemical researches

INTRODUCERE

Speciile *S. jacobaea* L., *S. vernalis* WALDST. et KIT. și *S. vulgaris* L. (*Asteraceae*) sunt denumite popular rujină, respectiv petimbroasă, cruciuliță, spălăcioasă și sunt cunoscute ca elemente floristice eurasiatice, răspândite și naturalizate mai ales în zona temperată: America de Nord, Australia, Noua Zeelandă, Argentina și în zona subtropicală a Africii de Nord. Sunt plante erbacee, comune în flora României, adaptate climatului temperat răcoros și umed. Cresc prin livezi, margini și tăieturi de pădure, ogoare, pașiști ruderalizate, de la câmpie până în zona montană și din zona de stepă până în etajul fagului sau imediat sub acesta. *S. jacobaea* este perenă, spre deosebire de *S. vernalis* și *S. vulgaris* care sunt anuale sau bianuale (CIOCĂRLAN V., 2000).

Speciile de *Senecio* conțin o diversitate de compuși: alcaloizi pirolizidinici, flavonozide, uleiuri volatile, poliuronide, tanin catehic, ulei gras (semințe), poliine (flori), acizi organici, oze, vitamine, săruri minerale. Datorită conținutului în alcaloizi pirolizidinici, speciile *S. jacobaea*, *S. vernalis* și *S. vulgaris* sunt considerate plante toxice. Totuși, în fitoterapie se utilizează părțile aeriene înflorite, sub denumirea generică de *Senecionis herba* (BRUNETON J., 1995; BRUNETON J., 1999; CIULEI I. et al., 1993; HEGNAUER R., 1999).

S. jacobaea era cunoscută încă din Antichitate ca plantă medicinală cu proprietăți emenagoge, calmante asupra durerilor menstruale, de regularizare a ritmului menstrual, activă în favorizarea lactației, antihemoroidală, antidiareică, antitusivă. În prezent, produsul vegetal *Senecionis jacobaeae herba* este indicat doar în aplicații locale, extern, în tratamentul artritei, mialgiilor, sciaticii, reumatismului nearticular. *S. vernalis* era utilizată, în medicina populară din Moldova, sub formă de extract apos de uz extern în tratamentul iritațiilor și erupțiilor cutanate. *S. vulgaris* prezintă aceleași acțiuni și utilizări ca și *S. jacobaea*, la care se adaugă acțiunea cardi tonică, antihipertensivă, emetică, antiepileptică. Din *Senecionis herba* se obțin atât preparate pentru uz intern – infuzii, decocturi, tincturi, cât și pentru uz extern – cataplasme, unguente, loțiuni (CIULEI I. et al., 1993; GRIGORESCU EM. et al., 2001).

Intoxicația cu alcaloizi pirolizidinici, datorată ingerării plantelor proaspete sau uscate de *Senecio*, este frecventă la erbivorele domestice, cu afectare hepatică, pulmonară, cardiacă și renală. Moartea se produce prin ciroză hepatică. Până în prezent nu s-au înregistrat intoxicații acute la om, ci doar intoxicații cronice. Nu se cunosc antidoturi în intoxicația cu alcaloizi pirolizidinici.

Trebuie remarcat faptul că, pentru speciile *S. jacobaea* și *S. vulgaris*, toate cazurile de intoxicații cu alcaloizi pirolizidinici, semnalate la om ca și la animale, s-au produs numai când plantele au fost utilizate ca aliment, și nu ca medicament. Spre deosebire de acestea, *S. vernalis* nu este citată în legătură cu astfel de situații (BRUNETON J., 1999; CIULEI I. et al., 1993; GRIGORESCU EM. et al., 2001).

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul vegetal utilizat a fost reprezentat de părțile aeriene recoltate în etapa de înflorire de la trei specii de *Senecio*: *S. jacobaea*, recoltată în luna august 2001, din împrejurimile localității Scaești (Dolj); *S. vernalis*, recoltată în aprilie 2002, din împrejurimile Craiovei, zona Parcului „N. Romanescu” și *S. vulgaris*, recoltată în luna iunie 2002, din Grădina Botanică a Universității din Craiova.

Separarea grupelor de principii active a fost efectuată prin extracția succesivă și selectivă a materialelor vegetale cu solvenți de polarități diferite. Inițial, produsele vegetale au fost extrase cu un solvent nepolar (eter etilic), apoi cu un solvent polar (metanol) și în final cu apă, obținând trei extracte (CIULEI I. et al., 1995; MOGOȘANU D. G. et al., 2003; ONIGA ILIOARA et al., 2003; POPESCU H. et al., 1981).

Pentru cercetările gaz-cromatografice preliminare materialul vegetal a fost reprezentat de părțile aeriene

recoltate în etapa de înflorire de la specia *S. jacobaea*.

Extractele obținute din produsul *Senecionis jacobaeae herba* au fost analizate prin cromatografie în fază gazoasă, ca atare și după prelucrare prin extracție pe fază solidă (SPE) și eluare cu n-hexan a extractului eteric și izooctan, în cazul extractului metanolic.

Analizele au fost efectuate la un gaz-cromatograf de tip HP 6 890, cu o coloană capilară 5% fenil-metil-siliconică, injector „splitless”, detector FID (250°C), gaz purtător H₂, gaz de referință („make-up”) N₂. Programarea temperaturii coloanei s-a efectuat astfel: inițial 50°C, apoi crește până la 140°C, cu 15°C/min. (I rampă de temperatură); de la 140°C crește până la 250°C (final), cu 5°C/min. (a II-a rampă de temperatură).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele analizei fitochimice preliminare a extractelor eteric, metanolic și apos, din părțile aeriene de *S. jacobaea*, *S. vernalis* și *S. vulgaris* sunt prezentate în **Tabelele 1–3**:

- ulei volatil, steroli, triterpene, carotenoide, acizi grași, alcaloizi baze și N-oxizi pirolizidinici, agliconi flavonici, cumarine (extractul eteric);
- tanin catehic, compuși reducători, alcaloizi baze și N-oxizi pirolizidinici, cumarine, flavonozide (extractul metanolic);
- poliuronide, compuși reducători, oze și tanin catehic (extractul apos).

Tabel 1. Analiza fitochimică preliminară a extractului eteric din *Senecionis herba*.
[Preliminary phytochemical analysis of the ether extract from *Senecionis herba*]

Principii active	Reacții de identificare	Extract eteric		
		<i>Senecionis jacobaeae herba</i>	<i>Senecionis vernalis herba</i>	<i>Senecionis vulgaris herba</i>
Ulei volatil	metoda NeoClevenger	(+)*	(+)*	(+)*
Steroli, triterpene	reacția Liebermann-Burchard	(+)	(+)	(+)
Carotenoide	reacția Carr-Price	(+)	(+)	(+)
Acizi grași	după hidroliză	(+)	(+)	(+)
Acizi rezinici	reacția Hirschsohn	(-)	(-)	(-)
Alcaloizi baze și N-oxizi pirolizidinici	cu reactivii Mayer, Bertrand și Ehrlich	(+)	(+)	(+)
Agliconi flavonici	reacția Shibata; galben intens în mediu alcalin	(+)	(+)	(-)
Emodoli	reacția Bornträger	(-)	(-)	(-)
Cumarine	fluorescența în UV; reacția Feigl-Frehden-Anger	(+)	(+)	(+)

*ulei volatil de culoare gălbuie, cu miros neplăcut, caracteristic (fetid)

Tabel 2. Analiza fitochimică preliminară a extractului metanolic din *Senecionis herba*.
[Preliminary phytochemical analysis of the methanol extract from *Senecionis herba*]

Principii active	Reacții de identificare	Extract metanolic		
		<i>Senecionis jacobaeae herba</i>	<i>Senecionis vernalis herba</i>	<i>Senecionis vulgaris herba</i>
Tanin catehic	reacția cu FeCl ₃ ; reacția Styassny	(+)	(+)	(+)
Compuși reducători	reacția Fehling	(+)	(+)	(+)
Alcaloizi săruri	reacția cu reactivul Mayer sau Bertrand	(-)	(-)	(-)
Alcaloizi baze și N-oxizi pirolizidinici	reacția cu reactivii Mayer, Bertrand și Ehrlich	(+)	(+)	(+)
Alcaloizi baze cuaternare de NH ₄ ⁺	reacția cu reactivii Mayer, Bertrand și Ehrlich	(-)	(-)	(-)
Aminoacizi	reacția cu ninhidrină	(-)	(-)	(-)
Antracenozide	reacția Bornträger	(-)	(-)	(-)
Cumarine	fluorescența în UV; reacția Feigl-Frehden-Anger	(+)	(+)	(+)
Heterozide cardiotonice	reacția Kedde; reacția Legal	(-)	(-)	(-)
Saponozide	reacția Liebermann-Burchard; proba spumefierii	(-)	(-)	(-)
Flavonozide	reacția Shibata; galben intens în mediu alcalin	(+)	(+)	(+)
Proantocianidoli	reacția cu HCl conc., t ⁰ C	(-)	(-)	(-)
Antocianozide	colorație roșie în mediu acid, viraj de culoare	(-)	(-)	(-)

Tabel 3. Analiza fitochimică preliminară a extractului apos din *Senecionis herba*.
 [Preliminary phytochemical analysis of the water extract from *Senecionis herba*]

Principii active	Reacții de identificare	Extract apos		
		<i>Senecionis jacobaeae herba</i>	<i>Senecionis vernalis herba</i>	<i>Senecionis vulgaris herba</i>
Poliuronide	precipitare în acetonă, colorare cu hematoxilina	(+)	(+)	(+)
Compuși reducători	reacția Fehling	(+)	(+)	(+)
Oze simple	reacția timolului	(+)	(+)	(+)
Saponozide	reacția Liebermann-Burchard; proba spumefierii	(-)	(-)	(-)
Taninuri catehice	reacția cu FeCl ₃ ; reacția Styassny	(+)	(+)	(+)
Alcaloizi săruri	reacția cu reactivii Mayer sau Bertrand	(-)	(-)	(-)

Considerațiile cu caracter preliminar, privind atribuirea picurilor din gaz-cromatograme, se bazează pe consultarea lucrărilor de specialitate și cataloagelor cromatografice, ținând cont de caracteristicile aparatului și de proprietățile fizico-chimice (solubilitate, temperatură de topire, timp de retenție etc.) ale compușilor separați.

Extractele din *Senecionis jacobaeae herba*, neprelucrate prin SPE, prezintă următoarele caracteristici:

▪ în cazul extractului eteric, din analiza gaz-cromatogramei, cu numeroase picuri aglomerate, fără separări nete, nu se pot obține informații cu caracter preliminar, fapt datorat neselectivității solventului față de compușii lipofili: ulei volatil, lipide, steroli, triterpene, carotenoide, alcaloizi pirolizidinici baze, agliconi flavonici, pigmenți clorofilieni (Figura 1).

▪ gaz-cromatogramele extractelor metanolic și apos evidențiază picuri bine separate, cu rezoluție și selectivitate mai bună decât în cazul extractului eteric, care au fost atribuite, cu probabilitate ridicată, după cum urmează (Figurile 2 și 3):

- intervalul de început, cu t_R între 4–8 min., pentru catehine.
- picul cu t_R 9.5 min., pentru acizii polifenol-carboxilici (●).
- picurile cu t_R între 10–15 min., pentru alcaloizii pirolizidinici (baze și N-oxizi).
- picul cu t_R 15.7 min., pentru flavonozide (■).
- picul cu t_R între 17.8 min., pentru agliconii flavonici (◆).
- picul cu t_R 24.5 min., corespunde unui compus cu masă moleculară mare, predominant lipofil, care ar putea fi un ester între o carotenoidă hidroxilată și acizi grași (◆).

Extracția pe fază solidă (SPE – *Solid Phase Extraction*) se utilizează la separarea selectivă și concentrarea analiților aflați în urme, care interferă și nu pot fi separați prin extracție L/L, în cercetările bioanalitice („curățirea” probelor biologice) și de mediu înconjurător, putând fi aplicată și la separarea principiilor active naturale.

Prin trecerea extractelor etilic și metanolic din *Senecionis jacobaeae herba* printr-o coloană cu adsorbant (silicagel) și eluarea cu n-hexan, respectiv izooctan, pigmenții clorofilieni sunt înlăturați, iar probele se concentrează în compusul lipofil cu t_R 24.5 min. (◆), după cum se observă și din gaz-cromatograme (Figurile 4 și 5).

Rezultatele obținute au caracter preliminar, deoarece picurile caracteristice compușilor de analizat se identifică numai prin cuplarea gaz-cromatografiei cu spectrometria de masă.

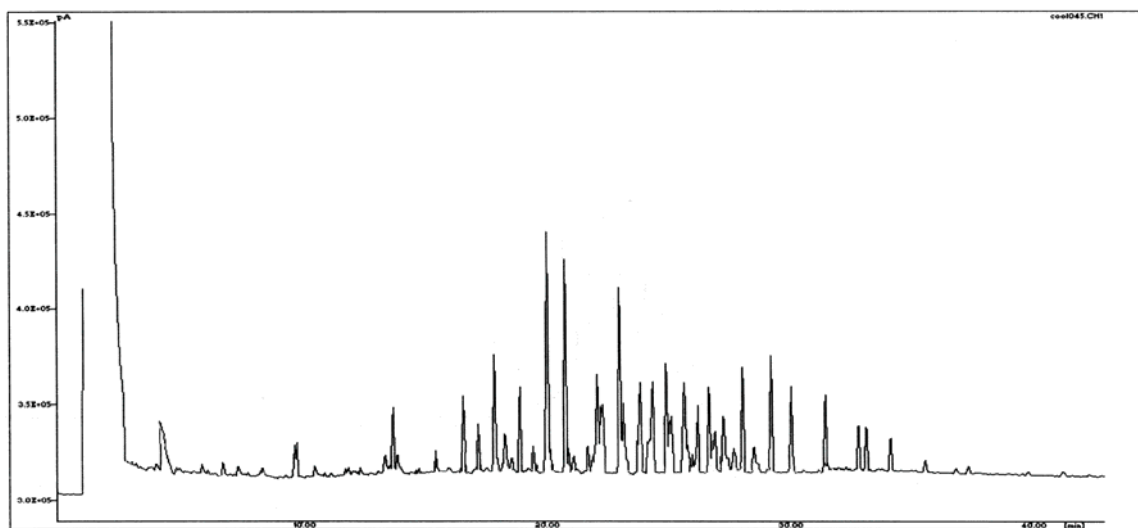


Fig. 1. Gaz-cromatograma extractului eteric provenit de la *Senecionis jacobaeae herba*.
 [Gas-chromatogram of the ether extract from *Senecionis jacobaeae herba*]

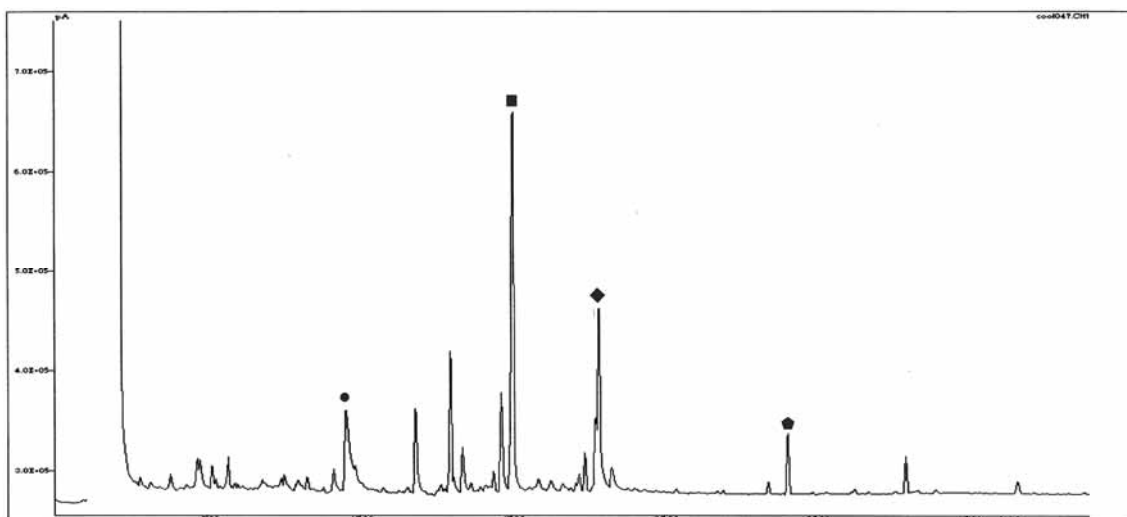


Fig 2. Gaz-cromatograma extractului metanolic provenit de la *Senecionis jacobaeae herba*.
[Gas-chromatogram of the methanol extract from *Senecionis jacobaeae herba*]

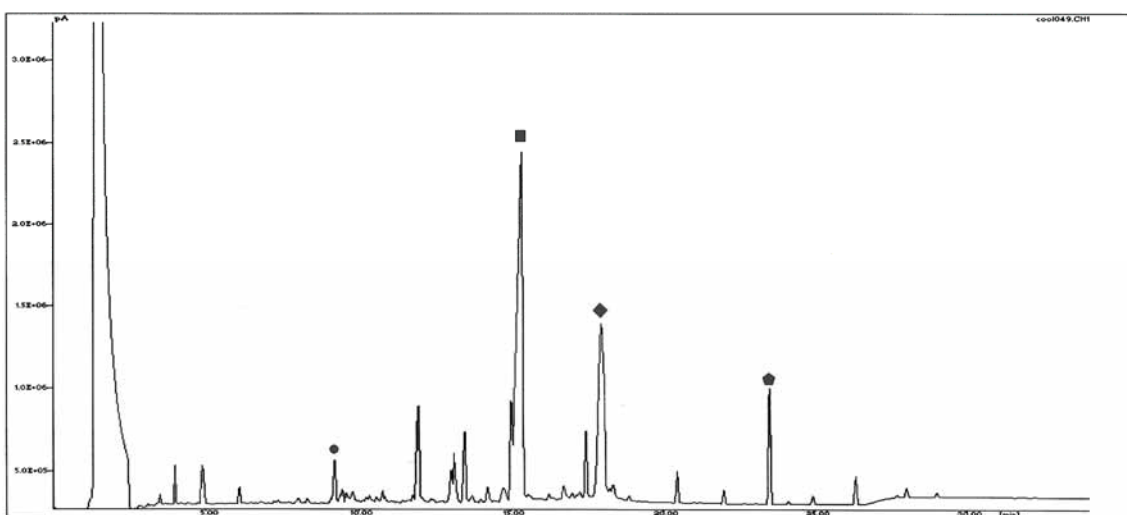


Fig. 3. Gaz-cromatograma extractului apos provenit de la *Senecionis jacobaeae herba*.
[Gas-chromatogram of the water extract from *Senecionis jacobaeae herba*]

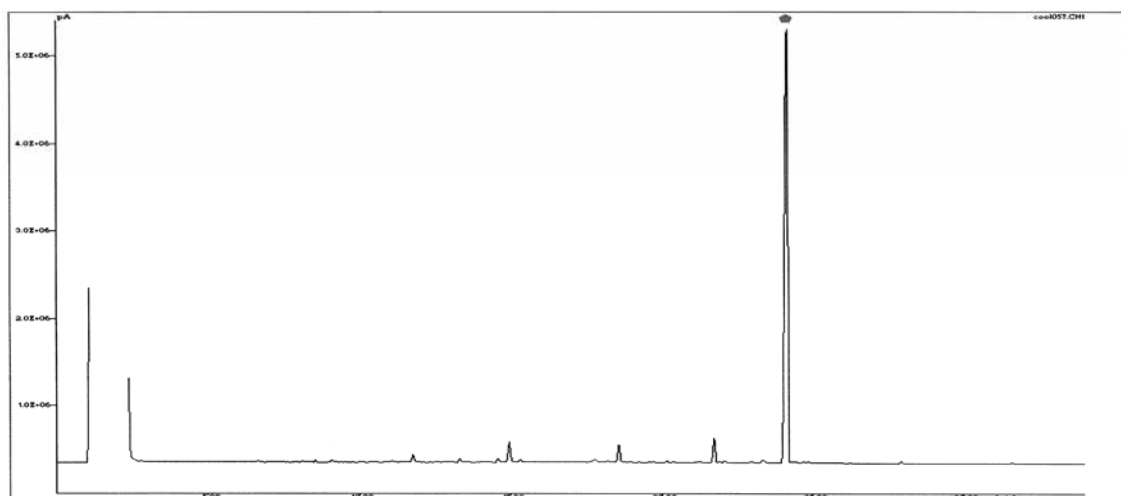


Fig. 4. Gaz-cromatograma extractului eteric, obținut din *Senecionis jacobaeae herba*, după separare prin extracție pe fază solidă (SPE) și eluare cu izooctan.
[Gas-chromatogram of the ether extract from *Senecionis jacobaeae herba*, after the Solid Phase Extraction and elution with isooctane]

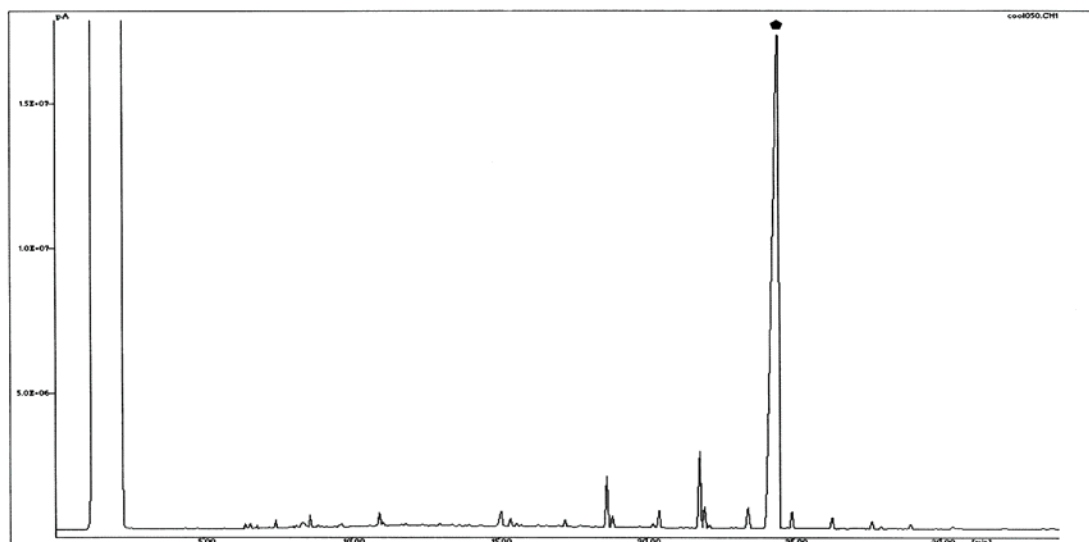


Fig. 5. Gaz-cromatograma extractului metanolic, obținut din *Senecionis jacobaeae herba*, după separare prin extracție pe fază solidă (SPE) și eluare cu n-hexan.

[Gas-chromatogram of the methanol from *Senecionis jacobaeae herba*, after the Solid Phase Extraction and elution with n-hexane]

În comparație cu metoda de extracție lichid/lichid, extracția pe fază solidă prezintă următoarele avantaje:

- faza solidă nu este miscibilă cu solvenții, după introducerea probei în cartuș componentele adsorbite putând fi eluate în diferite condiții experimentale.
- natura adsorbantului poate fi aleasă astfel încât să fie selectivă față de anumite grupări funcționale ale componentelor probei.

- nu se formează emulsii între cele două faze, adsorbant și probă.

- analiții aflați în concentrații mici (diluți în probe) pot fi concentrați prin reținere pe coloană.

- se folosesc volume mici de probă și solvenți, iar separarea poate fi realizată pe coloane, în serie.

Limitele metodei SPE sunt legate mai ales de natura adsorbantului:

- în general, recuperările sunt bune, dar uneori se recomandă utilizarea unui standard intern pentru compensarea oricărei posibilități de apariție a fenomenului de absorbție ireversibilă în mediul de extracție.
- coloanele cu silicagel sunt instabile în mediu puternic alcalin.

CONCLUZII

1. S-a efectuat analiza fitochimică preliminară a părților aeriene provenite de la speciile *S. jacobaea*, *S. vernalis* și *S. vulgaris*. Separarea grupelor de principii active s-a efectuat prin extracția succesivă și selectivă a produselor vegetale cu solvenți de polarități diferite, inițial cu un solvent nepolar (eter etilic), apoi cu un solvent polar (metanol) și în final cu apă.

2. În urma determinărilor preliminare asupra celor trei fitoextracte au fost identificate următoarele grupe de principii active: ulei volatil, steroli, triterpene, carotenoide, lipide, alcaloizi pirolizidinici (baze și N-oxizi), flavonozide, agliconi flavonici, cumarine, tanin catehic, poliuronide, oze, compuși reducători.

3. Diferite extracte obținute din produsul *Senecionis jacobaeae herba* au fost analizate prin cromatografie în fază gazoasă, ca atare sau după o prelucrare prealabilă prin extracție în fază solidă (SPE). Extracția pe fază solidă este folosită pentru separarea selectivă și concentrarea analiților aflați în urme, care interferă și nu pot fi separați prin extracție lichid/lichid, în determinările bioanalitice, de mediu înconjurător și la separarea principiilor active naturale.

4. Considerațiile cu caracter preliminar, privind atribuirea picurilor din gaz-cromatograme, se bazează pe consultarea lucrărilor de specialitate și cataloagelor cromatografice, ținând cont de caracteristicile aparatului și de proprietățile fizico-chimice (solubilitate, temperatură de topire, timp de retenție etc.) ale compușilor separați.

5. Pentru extractul eteric, datorită neselectivității solventului față de compușii lipofili, gaz-cromatograma prezintă numeroase picuri aglomerate, fără separări nete, care nu permit conturarea unor informații preliminare.

6. În gaz-cromatogramele extractelor metanolic și apos se evidențiază picuri bine separate, cu rezoluție și selectivitate mai bună decât în cazul extractului eteric, atribuite, cu probabilitate ridicată, în ordine: derivaților catehिनici, acizilor polifenol-carboxilici, alcaloizilor pirolizidinici (baze și N-oxizi), flavonozidelor și agliconilor flavonici, esterilor între carotenoide hidroxilate și acizi grași.

7. Rezultatele obținute au caracter preliminar, deoarece picurile caracteristice compușilor de analizat se identifică numai prin cuplarea analizei gaz-cromatografice cu spectrometria de masă.

BIBLIOGRAFIE

- BRUNETON J. 1995. *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales*. Lavoisier TEC & DOC. Paris.
- BRUNETON J. 1999. *Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. Lavoisier TEC & DOC. Londres–Paris–New York.
- CIOCÂRLAN V. 2000. *Flora ilustrată a României. Pteridophyta et Spermatophyta*. 2. Edit. Ceres. București.
- CIULEI I., GRIGORESCU EM., STĂNESCU URSULA. 1993. *Plante medicinale. Fitochimie și Fitoterapie*. 1, 2. Edit. Med.. București.
- CIULEI I., ISTUDOR VIORICA, PALADE MADELENA, ALBULESCU DOINA, GÂRD CERASELA-ELENA. 1995. *Analiza farmacognostică și fitochimică a produselor vegetale*. 1, 2. Tehnoplast Company SRL. București.
- GRIGORESCU EM., LAZĂR M. I., STĂNESCU URSULA, CIULEI I. 2001. *Index fitoterapeutic*. Edit. Cantes. Iași.
- HEGNAUER R. 1989. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. 8. Birkhäuser Verlag. Basel–Boston–Berlin.
- MOGOȘANU D. G., HANGANU DANIELA, OLAH NELI, BEJENARU L. E. 2003. *Cercetări asupra unor polifenoli din Senecio jacobaea L. și S. vulgaris L. (Asteraceae)*. Clujul Medical. 76(1): 139-143.
- ONIGA ILIOARA, BENEDEC DANIELA, HANGANU DANIELA. 2003. *Analiza produselor naturale medicinale*. Edit. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”. Cluj-Napoca.
- POPESCU H., GRECU LUCIA, CIOACĂ CRISTINA, ROȘCA M. 1981. *Analiza chimică a produselor naturale medicinale*. Litografia I. M. F. Cluj-Napoca.

Dan-George Mogoșanu, Ion Tiță
Facultatea de Farmacie, U.M.F. din Craiova
Str. Petru Rareș, nr. 2-4, RO-200349 Craiova, România
mogosanu@umfcv.ro