

CERCETĂRI HISTO-ANATOMICE ȘI BIOCHIMICE ASUPRA SPECIEI *ARONIA ARBUTIFOLIA* (L.) PERS.

RUGINĂ RODICA*, GRIGORESCU EM.** , STĂNESCU URSULA** ,
MIRON ANCA** , LUPU I.* , COJOCARU M.***

This species is native from North America and was introduced in the Botanical Garden of Iași.

The preliminary Researche was made to knowledge this Species at Pharmacognostical view-point.

It presents the structure of the vegetative and reproductive Organs (the annual Shoot, the leaves, the Fruit).

The bioactive Components' Analysis of the Fruits it evidenced the free and glycosidic triterpenic pentacyclic acids belonging to the anthocy-

anosids, the tanant substances and the polyholosids. About the chromatographic Behaviour it study the anthocyanosidical part, with three derivated and was dosed the tanant and the anthocyanosidic Substances. It seem that the anthocyanosidic fractional part may be the efficient Substitute of *Vaccinium myrthyllus* Fruit.

For make clear the possibility by this Substitute the pharmacologycal Researche are in development.

O grupă de substanțe larg răspândite în lumea vegetală sunt antocianii [1, 2, 3, 4], care datorită acțiunii de troficate [5] și de creștere a rezistenței capilare, sunt mult apreciați în terapia modernă. În țara noastră, sursa importantă de obținere a unui concentrat antocianozidic o constituie fructele de *Vaccinium myrthyllus*, din care se obține preparatul Difebiom [6]. Deoarece materialul vegetal (*Myrtili fructus*) este deficitar, ne-am îndreptat atenția

- Universitatea «Al. I. Cuza» Iași
- ** Universitatea de Medicină și Farmacie Iași
- *** Fabrica de Antibiotice Iași

spre o specie din familia *Rosaceae*, *Aronia arbutifolia* (L.) Pers., ale cărei bace au conținut ridicat de pigmenți antocianici, constituind, totodată, o sursă ușoară de obținere a lor.

Genul *Aronia* cuprinde 3 specii originare din America de Nord [7]. Specia luată de noi în studiu, în lucrările de specialitate [8, 9, 13] este citată ca fiind cultivată în Grădinile Botanice cu scop ornamental.

Din punct de vedere anatomic, dacă avem în vedere o serie de lucrări de sinteză [10, 12], *Aronia arbutifolia* nu a constituit obiectul de studiu sub acest aspect; într-un singur caz [11], fiind citată ca plantă alimentară, este redată succint structura fructului.

Asupra biochimiei fructului, literatura consultată nu cuprinde asemenea date, fapt încurajator pentru autori în a aborda subiectul de față.

Material și metodă

Cercetările de față fac posibilă cunoașterea, din punct de vedere farmacognostic, a speciei *Aronia arbutifolia*, provenind din colecțiile Grădinii Botanice din Iași.

S-a evidențiat astfel, pe secțiuni transversale, structura lăstarului anual, a frunzei și fructului; în cazul ultimelor două organe s-au făcut și secțiuni superficiale în vederea observării epidermei de față.

De asemenea, s-a izolat și caracterizat fracțiunea antocianică din fructele de *Aronia*, comparativ cu cea de *Vaccinium myrtillus*. În funcție de modul de prelucrare a materialului au fost obținute probele A₁ și A₂ din fructele proaspete (A₂ constituind materialul liofilizat) iar B și C din fructele congelate și respectiv uscate.

Pentru determinarea calitativă a fracțiunii antocianice, probele obținute au fost analizate comparativ cu mirtilina, prin cromatografierea pe hârtie și în strat subțire. Determinarea cantitativă s-a bazat pe calitatea de colorant a antocianilor în mediu acid, fotometrarea comparativă făcându-se în metanol acidulat acid clorhidric la $\lambda = 670$ mm.

Rezultate

Date histo-anatomice

Lăstarul anual (Pl. I), prezintă la exterior o epidermă în mare parte exfoliată, ale cărei celule mari, alungite tangențial are toți pereții îngroșați, cei externi fiind acoperiți de o cuticulă groasă.

Peridermul, format dintr-un felogen subepidermal, este alcătuit din 6-7 straturi de suber și 2-3 (4) straturi de feloderm puternic colenchimatizat.

Scoarța primară, paranchimatică, are celule ușor alungite tangențial, cu pereți de diviziune anticlini.

Periciclul este dicontinuu, alcătuit din grupe (6-7 stratificate) de fibre puternic sclerificate dar slab lignificate.

Țesutul conducător, inelar, prezintă: în inelul extern, liberian pe lângă elemente conducătoare și de parenchim, numeroase fibre, grupate sau izolate; în inelul lemnos, mult mai gros ca cel extern, vase lemnoase poligonale, mici, cu pereți subțiri care sunt izolate și împlântate într-un libriform puternic sclerificat și lignificat (spre exterior) sau formează grupe separate de parenchim lemnos și raze ușor sclerificate și lignificate (spre interior).

Măduva este celulozică, de tip meatic, bogat cristaliferă în centru și sclerificată și lignificată spre periferie, formând o zonă perimedulară, tri-stratificată.

Frunza (Pl. II). *Peșiolul*, secționat în zona mediană, prezintă contur semicircular cu fața adaxială plană sau ușor ondulată. Epiderma are celule mici, pătrate, cu toți pereții îngroșați, iar cei externi puternic cutinizați; din loc în loc se observă peri unicelulari, lungi, răsuciți.

Parenchimul fundamental este diferențiat într-un hipoderm colenchimatic (3-4 stratificat) și o zonă parenchimatică internă (5-6 straturi), bogat cristaliferă (cristale simple și ursini de oxalat de Ca).

Țesutul conducător se prezintă sub forma unui arc libero-lemnos, cu câte 1 (2) fascicule mai mici în prelungirea brațelor; la fața abaxială se observă o calotă de fibre înguste, slab sclerificate și lignificate, cu excepția celor de pe flancurile arcului.

În *limb*, epiderma văzută de față are celulele poligonale, cu pereții laterali drepti (epiderma superioară) sau ușor ondulați (epiderma inferioară); la fața

inferioară sunt vizibile numeroase stomate de tip anomocitic și peri tectori asemănători celor din pețiol.

În secțiune transversală, nervura mediană proeminează slab, larg-rotunjite la fața inferioară; singurul fascicul conducător al acesteia are formă eliptică și este înconjurat de o teacă parenchimatice unistratificată, cristali-feră.

Celulele epidermice, mai mari la fața superioară, au toți pereții îngroșați; cei interni sunt bombați spre mezofil iar cei externi sunt drepti și cutinizați.

Mezofilul, alcătuit din 6-7 straturi de celule, formează o palisadă adaxială, 2-3 stratificată și un țesut bogat lacunos abaxial, abundent cristali-fer.

Fructul (Pl. III). Celulele epicarpului, văzute de față, sunt mici, poligonale, cu pereții laterali foarte îngroșați; în secțiune transversală, celulele ușor alungite tangențial au îngroșați cu deosebire pereții externi, care sunt și puternic cutinizați.

În fructul matur, stomatele sunt rare, ca de altfel și perii tectori, asemănători celor din organele vegetative; cei mai mulți se recunosc după urmele lăsate după cădere.

Mezocarpul formează un hipoderm colenchimatic, 1-2 stratificat, ale cărui celule mici, alungite tangențial, împreună cu epicarpul, dă naștere la ceea ce se cunoaște sub numele de exocarp. În straturile următoare, celulele având pereții subțiri, intercalându-se cu numeroase sclereide izolate sau grupate, cresc treptat în dimensiune spre exterior.

Endocarpul este format din grupe de celule mici cu pereții îngroșați, alternând cu altele cu pereții subțiri, conținând numeroase cristale, simple, macle sau ursini; ca și în epicarp, sunt vizibili peri tectori situați însă pe mici proeminente.

Sămânța (Pl. III). Epiderma este alcătuită din celule poligonale, cu pereții subțiri. Următoarele straturi (4-5), colorate în brun, au celulele fibroase cu pereții îngroșați. După această zonă fibroasă urmează 2-3 straturi de celule parenchimatice turtite, ultimul având pereții ceva mai îngroșați și străbătuți de numeroși pori. La maturitatea fructului aceste straturi, dispar.

Endospermul nu este prea dezvoltat și este cuprins la exterior de o zonă subțire de perisperm. Celulele endospermului și embrionului conțin uleiuri și granule mici de aleuronă.

Date biochimice

În vederea analizei calitative și cantitative a antocianilor, probele A₁, A₂, B și C au fost analizate comparativ cu mirtilina, prin cromatografierea pe hârtie și în strat subțire. Condițiile studiului sunt redate în planșele IV-VI pentru fiecare cromatografiere în parte.

La cromatografierea pe hârtie (Pl. IV) concentratul prezintă 4 spoturi pentru două din valorile R_f., corespunzând cu 2 spoturi din complexul mirtlinei.

La cromatografierea în strat subțire (Pl. V, VI) numărul spoturilor identificate este 5, din care unul, în mod sigur, este malvidin 3,5-diglicozida, iar un altul aparținând cianidolului, rezultat probabil în urma ușoarei hidrolize ce are loc la extracția alcoolină în mediu acid.

Este de remarcat faptul că în concentrate apar și oarecare cantități de glucide care diluează în final probele.

Pentru determinarea cantitativă probele A₁, A₂, B și C s-au dizolvat într-un amestec de 10 ml acid clorhidric concentrat și alcool metilic 100 ml. Extincțiile s-au citit la $\lambda = 680 \text{ nm}$ în cuva de 1 cm^3 . Exprimarea conținutului total antocianic s-a făcut în raport cu antocianul etalon (cianidolul), știind că pentru o concentrație de 0,001 gr extincția obținută este de 0,025. Calculul s-a făcut utilizând formula:

$$\text{gr \% total antocianic} = \frac{E_p \times C_e}{a E_e} \times 100, \text{ în care}$$

E_p este extincția probei; C_e – concentrația etalonului; a – cantitatea de probă luată în lucru, în grame, E_e – extincția etalonului.

Datele obținute au fost înscrise în tabelul 1, în care sunt redate extincțiile (cea mai apropiată valoare de media din 5 determinări) citite și concentrația în total antocianic stabilită prin calcul. Analiza datelor arată că cel mai ridicat conținut în antocianozide îl are îndeosebi proba A₂ (liofilizat) și proba C (materialul uscat).

Totuși, probabil datorită modului de prelucrare a materialului, singurii agliconi antocianici identificabili sunt cianodolul și delfinidolul. Frațiunea glucidică pare a fi formată din glucoză alături și de acidul glucuronic.

Discuții – concluzii

Analiza structurii organelor vegetative și a fructelor evidențiază următoarele trăsături cu valoare de diagnostic: în *lăstar*: suberul pluristratificat cu pereții celulari îngroșați, țesutul liberian străbătut de numeroase fibre; țesutul lemnos cu vase înguste poligonale împlântate în libriform; în *frunză*: conturul semilunar al pețiolului, forma de arc a țesutului conducător; în *limb*: prezența perilor tectori unicelulari, lungi și răsuciți în epiderma inferioară; în *fruct*: prezența acelorași peri în pericarpul și endocarpul tânăr, a scleridelor foarte mari în mezocarp și în sfârșit celulele mici ale endocarpului, unele sclerificate iar altele cu pereți subțiri, bogat cristalifere.

Prelucrarea fructelor în vederea evidențierii calitative și cantitative a antocianilor s-a făcut în stare proaspătă și uscată, concentratele fiind mai bogate în stare uscată. Diferențele de concentrație provin, probabil, de la conținutul ridicat în apă a fructelor. Astfel, la extracție, pe lângă componentele antocianice apar și glucide (monomeri sau oligomeri) cu molecula mică.

Referitor la compoziția totalului antocianic, chiar dacă se remarcă diferențe față de cea din fructul de *Vaccinium myrtillus* sunt și unele asemănări; șansa ca acest complex să fie bioactiv este mare, cunoscând faptul că toate antocianozidele au acțiune la nivel vascular. Cercetările farmacologice viitoare vor infirma sau confirma activitatea farmacodinamică a complexului antocianic din fructele de *Aronia*.

BIBLIOGRAFIE

1. Bate-Smith E.C.: J. Exp. Botany 1953, 4, 1.
2. Farkas L., Gábor M., Kallay F.: *Topics in Flavonoid Chemistry*, Akademia Kiade, Budapest, 1975.
3. Tarpo M., Guju M., Concs O.: *Practica farmaceutică*, 1982, 209.
4. Van Haelen J.: J. Chromatography 1980, 187, 235.
5. Vogel G.: in *Pharmacognosy and Phytochemistry*, H. Wagner u L. Hörhammer eds., Springer Verlag, Berlin, 1972, 372.
6. * * *: Agenda Medicală, pg.92. Edit. Medicală, București, 1992, 402.
7. Britton N., Brown A. – *An Illustrated Flora of the Northern United States and Canada*, New-York, vol. II, 1970.
8. Dumitriu-Tătăranu I.: *Arbori și arbuști forestieri și ornamentali cultivați în R. P. R.*, București, 1960.
9. Krüssmann G.: *Handbuch der Laubgehölze*, Paul Parey, Hamburg, vol. I, 1959.

CERCETĂRI HISTO-ANATOMICE ȘI BIOCHIMICE

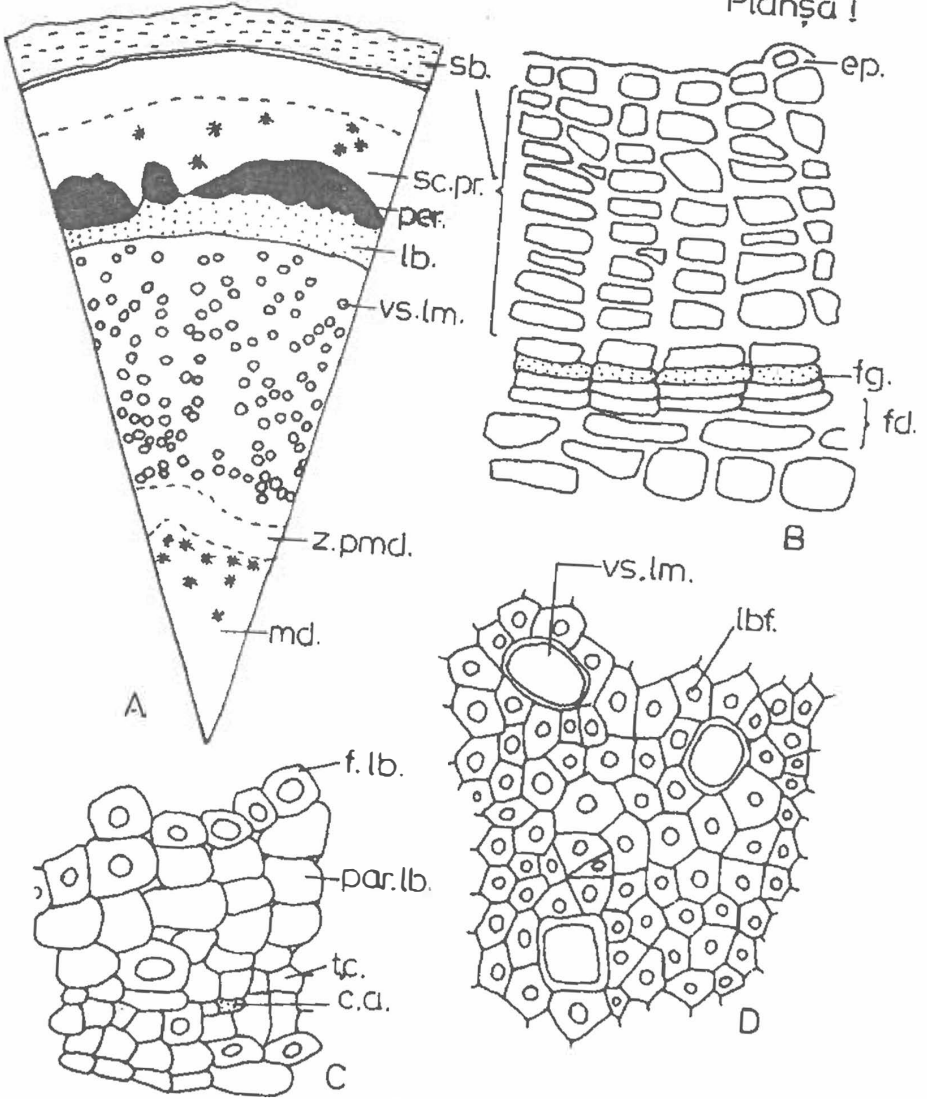
10. Metcalfe C.R., Chalk L.: *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford, Academic Press, vol. I, 1957.
11. Nikitin A.A., Pankova I.A.: *Anatomiceskii atlas poleznih i nekotarih iadovitih rastenia*, Leningrad, Nauka, 1982.
12. Petri Gisella: *Drogatlasz*, Budapest, 1979.
13. Purcelean St.V., Cocalcu D.T.: *Cultura arbuștilor ornamentali*, București, 1966.

TABELUL I – Determinarea cantitativă a antocianilor din fructele de *Aronia arbutifolia*, prelucrate în mod diferit

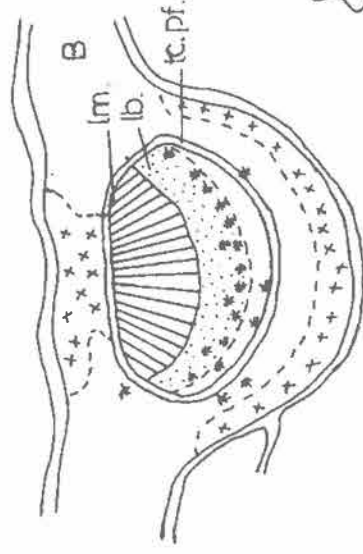
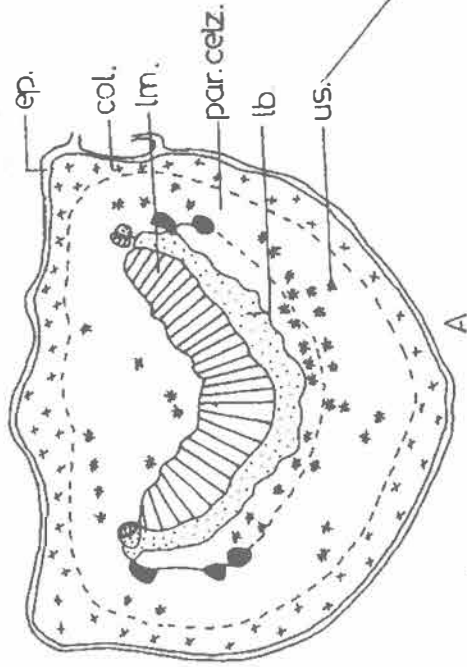
Proba	Nr. determinări	E_p	a (g probă luată în lucru)	g% total antocianic
A-1	1	0,135	1,0013	0,54
	2	0,131	1,0007	0,52
	3	0,129	0,9998	0,518
	4	0,135	1,0106	0,535
	5	0,134	1,0032	0,536
A-2	1	0,171	1,0204	0,67
	2	0,169	1,0183	0,665
	3	0,171	1,0225	0,67
	4	0,175	1,0273	0,683
	5	0,170	1,0091	0,674
B	1	0,148	1,0223	0,58
	2	0,145	1,0221	0,568
	3	0,145	1,0229	0,568
	4	0,144	0,9919	0,582
	5	0,150	1,0235	0,588
C	1	0,160	1,0352	0,62
	2	0,160	1,0344	0,62
	3	0,165	1,0373	0,637
	4	0,163	1,0329	0,631
	5	0,155	1,0093	0,615

Rodica Rugină și colab.

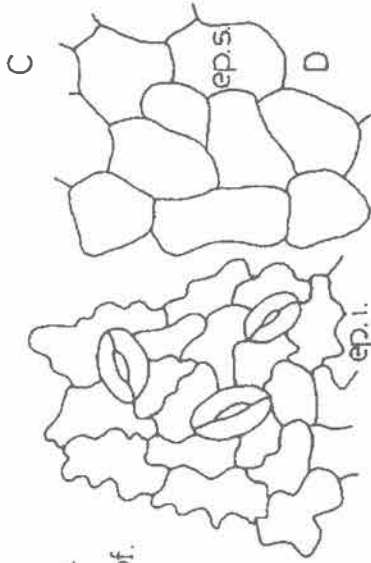
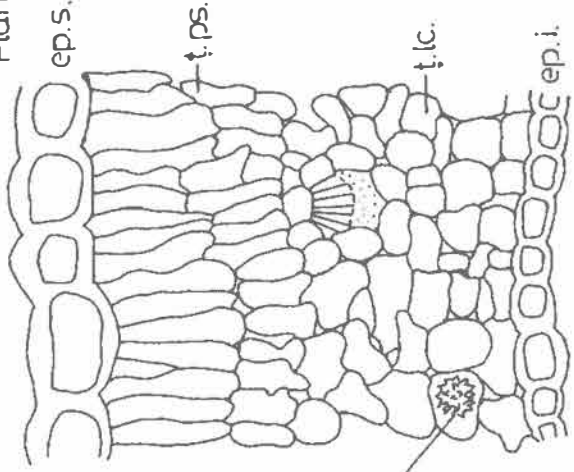
Planșa I



Rodica Rugină și colab.

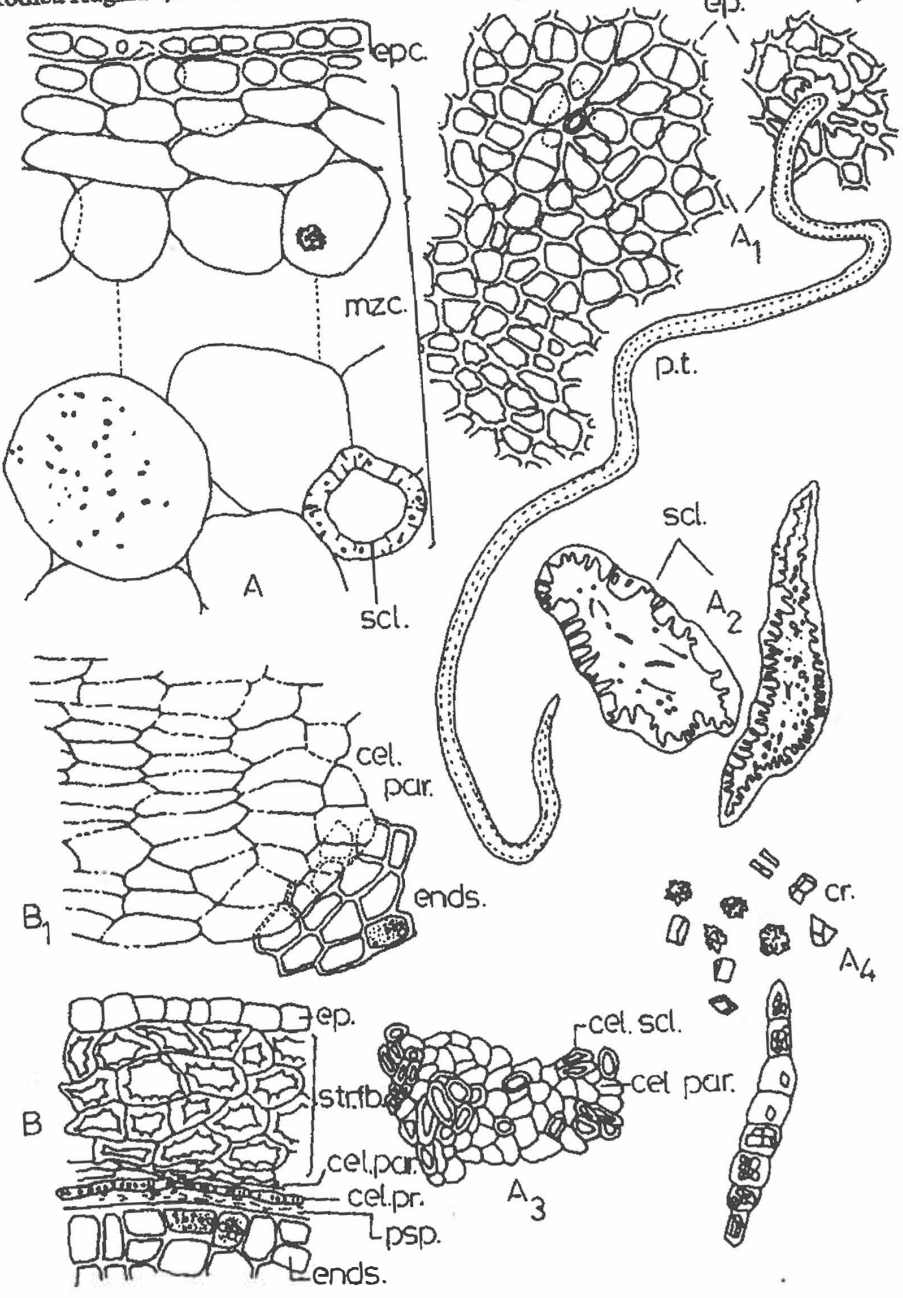


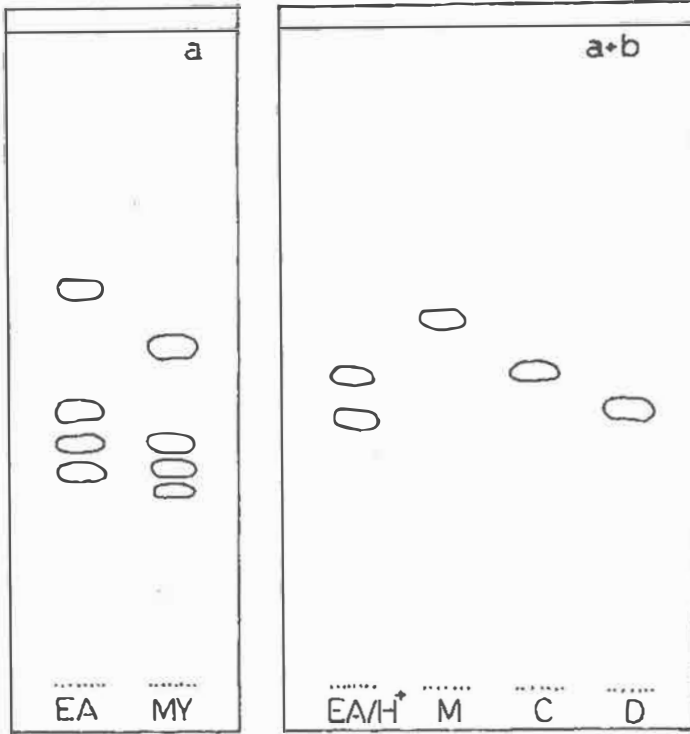
Planșa II



Rodica Rugină și colab.

Planșa III





Cromatograma pe hîrtie a fracțiunilor
antocianice din fructele de Aronia.

Hîrtie cromatografică: MN 263 (15 x 42 cm).

Solvenți: a. HCl-acid acetic-apă (3 : 15 : 82).

b. acid acetic 60%.

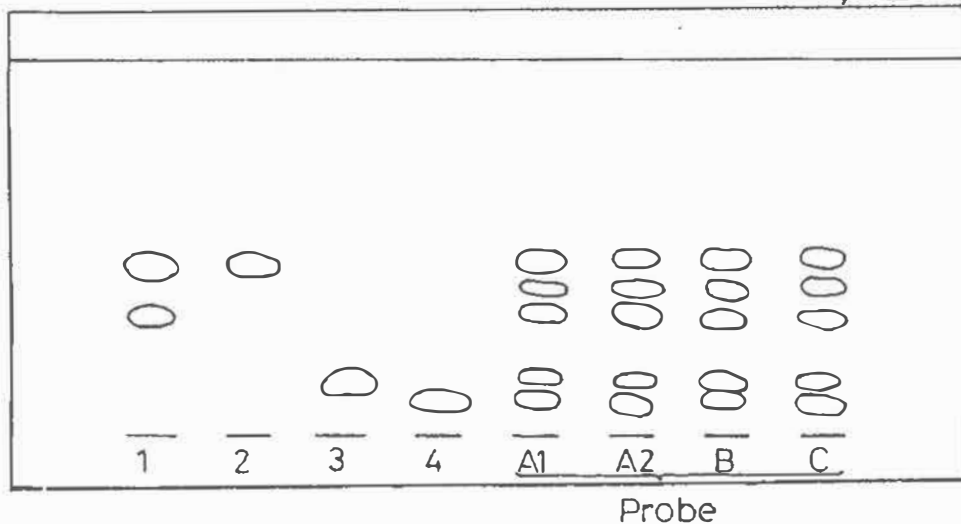
Revelare: examinare în VIS.

Etaloane: MY = mirtilina

M = malvidol

D = delphinidol

C = cianidol



Cromatografia pe strat subțire

Suport: Kieselgel G Merck Fertigplatten (10×20 cm)

Solvent: n-butanol-acid acetic-apă (40:10:20)

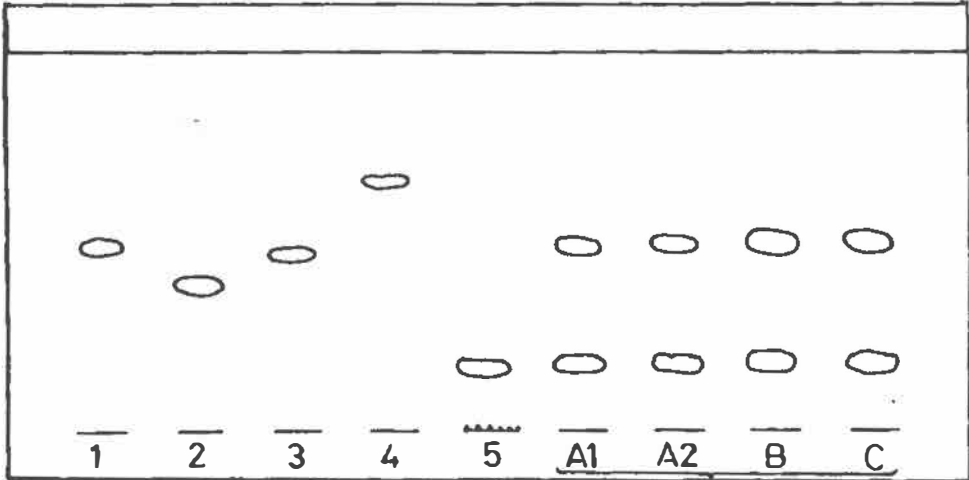
Revelare: Examinare în VIS

Etalonare: 1-mirtilină

2-malvidin 3,5-diglucozida

3-cianidol

4-delfinidol



Probe

Cromatografia pe strat subțire pentru oze.

Suport: Kieselgel G Merck Fertigplatten (10×20cm)

Solvent: n-butanol-acid acetic-acetonă-apă
(35:10:35:20)

Revelare: pulverizare cu acid difenilamino-anilinfosforic
încălzire 10 la 105°C

Etalonare: 1-glucoză

2-galactoză

3-arabinoză

4-ramnoză

5-acid glucuronic