STUDII BOTANICE ŞI FITOCHIMICE ASUPRA SPECIEI TANACETUM VULGARE L. DIN TRANSILVANIA

MARIA LUCIA MUREŞAN[1], ILIOARA ONIGA[2], CECILIA GEORGESCU[3], RAMONA PALTINEAN[4], FELICIA GLIGOR[5], MIHAI TUDOR CRĂCIUNAŞ[6], RADU OPREAN[7]

[1]S.C Farmacia Nartea SRL, [2,4,7]Universitatea de Medicină şi Farmacie „Iuliu Haţieganu" Cluj-Napoca, [3,5,6]Universitatea „Lucian Blaga" Sibiu

Cuvinte cheie: *Tanacetum vulgare L., inflorescenţe, microscopie, gas-cromatografie, spectrometrie de masă*

Rezumat: *Studiul urmăreşte să aducă noi contribuţii la cunoaşterea farmacognostică a speciei Tanacetum vulgare L. (Asteraceae), vetrice, recoltată din flora spontană a României, din Transilvania. În cadrul studiului s-au utilizat inflorescenţele recoltate de la specia Tanacetum vulgare L. şi de la specia Tanacetum balsamita var tanacetoides din zona Cluj- Napoca. S-a realizat un studiu microscopic şi unul gaz-cromatografic cuplat cu spectrometrie de masă. Inflorescenţele speciei Tanacetum vulgare prezintă caracteristici morfologice şi histo-anatomice asemănătoare celor descrise în literatura de specialitate. Diferenţele faţă de inflorescenţele speciei Tanacetum balsamita var tanacetoides apar la nivelul involucrului şi granulelor de polen. Compusul majoritar identificat a fost tuion-2-onă. Doi compuşi, selina- 3,7(11)- dienă şi 2- acetil- 3,4,6-trimetilpirazin au fost pentru prima dată identificaţi în uleiul volatil de vetrice. Cunoaşterea caracteristicilor botanice şi fitochimice ale speciei T. vulgare, permite identificarea corectă a materialului vegetal în vederea utilizării sale în scop medicinal.*

Keywords: *Tanacetum vulgare L, inflorescence, microscopy, gas-cromatography, mass-spectrometry*

Abstract: *The aim of this study is to bring new contributions to pharmacognostical knowledge of Tanacetum vulgare L. (Asteraceae), common tansy, harvested from the spontaneous flora of Transylvania. In this study, head flowers of tansy and of Tanacetum balsamita var. tanacetoides harvested from around Cluj- Napoca were used. It was carried out a microscopically and a gas-chromatography and a mass-spectrometry study. Head flowers of tansy presented morphological and histo-anatomical features related to those described in the scientific research. The differences to the head flowers of Tanacetum balsamita var. tanacetoides were in the involucres and pollen grains. Two compounds, selina- 3,7(11)- diene and 2-acetyl-3,4,6- trimethylpyrazine were for the first time identified in the essential oil of tansy. Thujen-2- one was the major compound. The knowledge of botanical and phytochemical characteristics of Tanacetum vulgare allows a correct identification of the plant material important for medical purpose.*

INTRODUCERE

Specia *Tanacetum vulgare L.* (*Asteraceae*) denumită popular vetrice, este cunoscută pentru acţiunea antihelmintică, dar datorită toxicităţii sale, administrarea preparatelor trebuie făcută cu precauţie. Studiile au arătat că tuiona din uleiul volatil este responsabilă de toxicitate, dar este implicată şi în acţiunea antihelmintică.(1-6)

În ţara noastră, această specie este larg răspândită, însă există puţine studii asupra caracteristicilor morfologice, histo-anatomice şi fitochimice. Aceste date sunt importante pentru o identificare corectă a materialului vegetal, dar şi pentru o valorificare corectă în terapie a acestei plante.

SCOP

Scopul acestui studiu este de a evidenţia principalele caracteristici morfologice şi histo-anatomice şi de a analiza uleiul volatil din specia *Tanacetum vulgare* recoltată din flora spontană a Transilvaniei.

MATERIAL ŞI METODĂ DE LUCRU

Materialul vegetal a constat în inflorescenţe uscate provenite de la specia *Tanacetum vulgare* recoltată din flora spontană a României, respectiv din împrejurimile Sibiului în perioada înfloririi (iunie), în anul 2013. Pentru comparaţie s-a analizat botanic şi specia *Tanacetum balsamita var. tanacetoides*, calapărul, cu care vetricea se poate confunda. Câte un exemplar din cele 2 specii se găseşte depozitat la Disciplina de Farmacognozie a Facultăţii de Farmacie din Cluj-Napoca (Vouchere nr. 26, 27).

Pentru analiza botanică s-a utilizat stereomicroscopul Motic pentru a pune în evidenţă elementele morfologice şi microscopul Olympus CX31 pentru caracteristicile histo-anatomice ale celor două specii.

Pentru realizarea analizei microscopice se apelează la tehnica de examinare a pulberii produselor Tanaceti vulgare herba şi Tanaceti balsamitae herba, după clarificare cu soluţie de cloralhidrat 80%. Preparatele microscopice au fost realizate conform Farmacopeei Europene ediţia a VII-a, monografia *Tanaceti parthenii herba*.(7)

Extracţia uleiurilor volatile s-a realizat prin antrenare cu vapori de apă, cu aparatul tip Neo-Clevenger, conform tehnicii prevăzute în Farmacopeea Română ediţia a X- a.(8)

Uleiurile volatile s-au analizat prin gaz-cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă (GC- MS). S-a utilizat un gaz cromatograf Hewlett- Packard 5872, seria II- 5972 MS, cu o coloană HP-MS 5, Agilent 6890 cu diametrul intern de 0.26 mm, lungimea de 30m şi grosimea fazei staţionare de 0.25µm Separarea s-a realizat în următoarele condiţii cromatografice: injecţie manuală, temperatura injectorului la 250° C, divizare 1:20, gazul purtător, heliu, debit 1mL/ minut, viteză lineară de

[1]Autor corespondent: Maria Lucia Mureşan, Str. Anton Pann 4a, Cod 550378, Sibiu. România, E-mail: nartea_maria@yahoo.de, Tel: +40752 222953
Articol intrat în redacţie în 13.10.2014 şi acceptat spre publicare în 11.11.2014
ACTA MEDICA TRANSILVANICA Decembrie 2014;2(4):145-147

36.4 cm/s, program de temperatură a coloanei de la 60° C la 240° C cu creştere de 3° C/ minut, temperatura detectorului la 280° C, timpul de analiză de 60 minute.(9) Spectrometrul de masă (a fost operat la o intensitate a fluxului de electroni de 70 eV, iar scanările au fost efectuate pe domeniul 41- 300 amu. Rezultatele obţinute au fost interpretate folosind metoda Wiley indirectă şi baza de date a metodei.(13)

REZULTATE

În urma analizei microscopice, s-au stabilit următoarele caracteristici ale speciei *Tanacetum vulgare L.*:

- Inflorescenţele sunt mici, tubuloase, dispuse în antodii (calatidii) pe ramificaţii de tip corimb. Aceste calatidii sunt protejate la exterior de unul sau mai multe rânduri de bractei care alcătuiesc un involucru. Involucrul este semiglobulos, turtit, cu bractei verzi, pe margine brune, tari şi obtuze la vârf. Stratul intern de bractei este membranos, iar foliolele sunt turtite la vârf (figura nr 1).
- Corola este formată din 5 petale unite, tubuloasă cu simetrie radiară, unde anterele staminelor sunt concrescute formând un tub. Prezintă granule de polen sferice triporate, în care exina este echinulată (figura nr. 2).
- Fragmentele de flori conţin rozete de oxalat de calciu.
- S-au identificat numeroşi peri tectori mari, pluricelulari, formaţi dintr-o celulă bazală romboidală, 3-5 celule mici rectangulare cu pereţi celulari groşi şi o celulă terminală foarte lungă, curbată în unghi drept faţă de axul celulei bazale (în forma literei T), dar şi peri secretori cu pedicel scurt, în care celulele secretoare sunt acoperite de o cuticulă (figura nr. 3).

În comparaţie cu această specie, specia *Tanacetum balsamita var tanacetoides*, calapăr, prezintă diferenţe la nivelul involucrului. Acesta este format din 2 rânduri de bractei în care rândul intern este format din bractei rotunjite la vârf, iar cel extern din bractei mai scurte şi ascuţite la vârf (figura nr 4). De asemenea apar diferenţe şi la nivelul granulelor de polen care prezintă o formă sferică simplă şi nu triporată.

Figura nr. 1. Inflorescenţele de Tanacetum vulgare L

Figura nr. 2. Granule de polen de Tanacetum vulgare L

Izolarea uleiului volatil s-a făcut prin metoda antrenării cu vapori de apă în circuit închis şi s-a determinat o concentraţie de 0,89% (V/m) ulei volatil în inflorescenţele speciei *Tanacetum vulgare*, concentraţie ce se află în limitele prevăzute în literatură, între 0,4% - 1,1%.(14)

Analiza prin gaz-cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă: Identificarea s-a realizat pe baza timpului de retenţie şi a spectrelor de masă ale compuşilor din biblioteca de date. În uleiul volatil din inflorescenţe s-au separat 160 compuşi dintre care au fost identificaţi 105. Dintre compuşii separaţi, 14 compuşi au avut concentraţii peste 1%, reprezentând 56,2% din compoziţia uleiului volatil. În tabelul nr. 1 sunt prezentaţi compuşii cu o concentraţie peste 0.1%.

Figura nr. 3. Peri tectori de Tanacetum vulgare L

Figura nr. 4. Involucru la Tanacetum vulgare L

Tabelul nr. 1. Compuşi identificaţi în uleiul volatil izolat din inflorescenţe de T. vulgare

Nr. Crt	Compus	Timp de retenţie tr	RI	Concentraţie %
1	Tuion- 2-onă	13,66	1176	13,66
2	Acetat de crizantenil	16,19	1238	13,18
3	Artemisia - cetonă	9,23	1061	6,66
4	Camfor	12,37	1145	4,75
5	Alfa-tuionă	10,86	1107	3,07
6	Germacrene- D	26,22	1480	2,99
7	Selina- 3,7(11)- dienă	32,96	1655	2,69
8	Beta- tuionă	11,22	1116	1,54
9	2(1H)- piridinonă	13,18	1165	1,43
10	1,8- cineol	8,18	1031	1,42
11	Beta- patchoulene	26,31	1482	1,31
12	l-4-terpineol	13,75	1179	1,23
13	Timol	18,48	1292	1,14
14	2- acetil- 3,4,6- Trimetilpirazin	31,91	1627	1,13
15	beta- Cariophillene	23,71	1418	0,7
16	Naphtalenol	26,98	1499	0,68
17	Yomogi- alcohol	7,11	1000	0,49
18	Geranilizovalerat	30,28	1584	0,48
19	Artemisia alcohol	9,99	1083	0,47
20	Alfa- terpineol	14,23	1191	0,47
21	p- Cymen	7,95	1024	0,47
22	Viridiflorol	32,82	1651	0,41
23	Borneol L	13,25	1167	0,42
24	Cromolaenin	43,68	1896	0,42
25	Bicyclogermacrene	26,81	1495	0,34
26	(-)- Caryophyllene-oxid	30,14	1580	0,34
27	gamma- Terpinen	9,12	1058	0,34
28	(+) Spatulenol	29,93	1575	0,33
29	delta- Cadinen	27,9	1523	0,29
30	trans- Cryzantenol	12,02	1136	0,26
31	Nerylacetat	21,53	1366	0,24
32	Myrtenol	14,47	1197	0,24
33	Bornilacetat	18,21	1286	0,23
34	7- epi- alfa- selinen	27,62	1515	0,23
35	Izopinocarveol	12,13	1138	0,21
36	Trans-beta- Farnesene	25,3	1458	0,2
37	Germacrene B	31,53	1617	0,19
38	Izolongifolenă	21,93	1375	0,19

39	Crizantenonă	11,6	1125	0,18
40	Izocitronelol	29,38	1561	0,17
41	alfa- Guaiene	30,9	1599	0,16
42	alfa - Terpinen	7,7	1017	0,16
43	Nerolidol	29,47	1563	0,16
44	Farnesene	28,88	1548	0,15
45	cis- Jasmone	22,9	1398	0,14
46	Metil biphenil- 4- carboxilat	33,61	1672	0,14
47	Cuminal	16,31	1241	0,13
48	Limonen	8,09	1024	0,12
49	(+)- beta- guaienă	32,53	1643	0,12
50	alfa- terpinenă	11,43	1121	0,11
51	Naftalenă	32,37	1639	0,11
52	Camfenă	14,89	1207	0,11

Rezultatele reprezintă media a 3 determinări.

DISCUŢII

Inflorescenţele speciei *Tanacetum vulgare* prezintă caracteristici morfologice şi histo-anatomice asemănătoare celor descrise în literatura de specialitate.

Compusul majoritar este reprezentat de tuion- 2- onă (13,66%). Uleiul volatil conţine cei 2 izomeri ai tuionei, alfa- şi beta tuiona, cetone monoterpenice implicate în toxicitatea uleiurilor volatile de vetrice.(3) Prezenţa acestor compuşi limitează utilizarea produsului vegetal, ca timp şi doze administrate.

Acetatul de crizantenil este prezent de asemenea în concentraţie mare (13,18%), fiind un compus frecvent semnalat în uleiurile volatile de *Tanacetum vulgare* din diferite regiuni geografice.(15- 17)

Dintre compuşii identificaţi sunt semnalaţi pentru prima dată printre compuşii majoritari (concentraţie >1%) selina- 3,7(11)- diena (2,69%) şi 2- acetil- 3,4,6-trimetilpirazina (1,13%).

CONCLUZII

În urma studiului microscopic s-au stabilit principalele caracteristici morfo-anatomice şi histologice ale inflorescenţelor speciei *Tanacetum vulgare L.* recoltată din zona Sibiului. Acestea se pot diferenţia de inflorescenţele de *Tanacetum balsamita var tanacetoides* prin particularităţi la nivelul involucrului şi granulelor de polen.

Prin analiza gaz-cromatografică cuplată cu spectrometria de masă a uleiului volatil din inflorescenţe de *Tanacetum vulgare* s-au identificat 105 compuşi, printre care: tuion- 2- onă, acetatul de crizantenil, artemisia cetonă, camfor, alfa- tuionă, germacrene-D, beta-tuionă, 1,8-cineol.

Compuşii selina- 3,7(11)- dienă şi 2- acetil- 3,4,6-trimetilpirazin au fost semnalaţi pentru prima dată în specia *Tanacetum vulgare* din România.

Cunoașterea caracteristicilor botanice și fitochimice ale speciei *T. vulgare*, permite identificarea corectă a materialului vegetal în vederea utilizării sale în scop medicinal.

REFERINŢE

1. Álverez AL, Habtemariam S, Badaturuge MJ, Parra CF. In vitro anti HSV 1 and HSV-2 activity of Tanacetum vulgare extracts and isolated compounds: An approach to their mechanisms of action. Phytotherapy Research 2011;25(1):296- 301.
2. Godinho LS, Carvalho LSA, Castro CCB, Dias MM, Faria Pinto P, Miller Crotti EA, Pinto PLS, Moraes J, Da Silva Filho AA. Antihelmintic Activity of Crude Extract and Essential Oil of Tanacetum vulgare (Asteraceae) against Adult Worms of Schistosoma mansoni. Hindawi Publishing Corporation, Scientific World Journal 2014;2014:1-9.
3. Abass OPK, Wiesner J. Thujone and thujone containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2013;65:100-107.
4. Sanaa L, Yafar H, Israili, Badiaa L. Acute and chronic toxicity of izophilised aqueous extract of Tanacetum vulgare leaves in rodents. Journal of Ethnopharmacology 2008;14:221-227.
5. Asta J, Danute M. The inflorescence and leaf essential oils of Tanacetum vulgare L. var. vulgare growing wild in Lithuania. Biochemical Systematics and Ecology 2005;33:487-498.
6. Gang X, Schepetkin AI. Quinn MT. Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from Tanacetum vulgare L. Int Immunopharmacol 2007;7(13):1639- 1650.
7. European Directorate for Quality Medicines, European Pharmacopoeia, 7th ed. European Directorate for Quality Medicines, Strasbourg; 2010.
8. Farmacopeea Română, ediţia a X-a, Ed. Medicală, Bucureşti 2008:1046-1064.
9. Bojiţă M, Roman L, Săndulescu R. Oprean R. Analiza şi controlul medicamentelor. Ed. Intelcredo 2003(2):296.
10. Rohfeld B. Mikroskopisches Farbatlas pflanzlicher Drogen, Spektrum Akademischer Verlag 2009:104.
11. Bonnier G, Darvin R, Porinset I. La grande flore, 3rd ed.. Belim Press 1990:545- 546.
12. Ciocârlan V. Flora ilustrată a Romaniei, Pteridophyta et Spermatophyta. Ed. Ceres 2000:800-804.
13. Oprean R, Tămaş M, Săndulescu R, Roman L. Essential oil analysis. I. Evaluation of essential oils composition using both GC and MS fingerprints. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 1998;18:651- 657.
14. Tétényi P, Kaposi P, Héthelyi E. Variations in the essential oils of Tanacetum vulgare. Phytochemistry 1975;14(7):1539-1544.
15. Neszmelyi A, Milne GWA, Podanyi B, Kocza I, Hethelyi E.. Composition of the essential oil of clone 409 of Tanacetum vulgare and 2D NMR investigation of trans-chrysanthenil acetate. Journal of Essential oil Research 1992;4(3):243- 250.
16. De Pooter HL, Verneesch J, Schamp N. The Essential oils of Tanacetum vulgare L. and Tanacetum parthenium (L.) Schultz – Bip, Journal of Essential oil Research 1989;1(1):9-13.
17. Keskitalo M, Pelm E, Simon EJ. Variation in volatile compounds from tansy (Tanacetum vulgare L.) related to genetic and morphological differences of genotypes. Biochemical Systematics and Ecology 2001;29(3):267-285.