

REZUMAT

Importanța farmaceutică a speciei *Digitalis lanata Ehrh.* a fost stabilită la începutul secolului XX, când s-a constatat că frunzele acesteia sunt mai bogate în heterozide cardiotonice decât cele de *Digitalis purpurea*, la ora actuală, constituind materia primă de bază din care se extrag glicozidele digitalice (Ciulei, 1993).

Frunzele de degețel lănos (*Digitalis lanata*) nu se utilizează ca atare, sub formă proaspătă sau uscată, ci servesc ca materie primă pentru extragerea unor principii active, care intră în componența unor medicamente administrate în insuficiența cardiacă, având o acțiune tonifiantă asupra miocardului.

Lanatoglicozidele sunt de 3-5 ori mai active decât purpureaglicozidele, obținute din *Digitalis purpurea*, efectul lor este de o durată mai scurtă, eliminându-se mai rapid din organism.

În prezent, toate medicamentele cardiotonice, la noi în țară, se obțin numai din frunzele de *Digitalis lanata*, industria noastră produce o gamă largă de astfel de produse: Lanatozid C, Nidactil (*acetil digitoxină*), Digoxin (*desacetil lanatozid C*) și altele, derivate ale acestora.

Gama largă de medicamente cardiotonice este necesară nu numai pentru a avea la îndemână preparate care acționează mai rapid sau mai lent, cu efecte de mai scurtă sau de lungă durată, ci și pentru a se putea continua tratamentul atunci când apar fenomene de intoleranță.

Frunzele de digitală au și o acțiune diuretică datorită prezenței în compoziția lor a saponozidelor și flavonelor, efectul cardi tonic și diuretic persistând timp de aproape două săptămâni după administrarea preparatelor.

Frunzele proaspete, recoltate înaintea înfloririi plantelor, se utilizează și în tratamente homeopatice: în primul rând ca remedi cardiac, dar și în afecțiuni ale

aparaturii urinar, retenția de apă din organism, contra depresiei nervoase, a tulburărilor de somn, migrenelor, hepatitei, icterului și prostatitei.

Din frunzele de degețel (*Folium Digitalis*) se prepară tinctura, extractul uscat și infuzia, acțiunea terapeutică a preparatelor, datorându-se complexului de glicozide cardiotonice, digitoxina, gitoxina și gitaloxina. În literatura de specialitate există numeroase procedee de extracție a glicozidelor, oficializată de Farmacopea Română sau din alte țări.

Teza de doctorat cu titlul „**Contribuții la studiul efectului unor agenți mutageni chimici asupra unor caractere morfo-fiziologice și biochimice la degețelul lănos (*Digitalis lanata*)**” este extinsă pe 186 de pagini și este formată, în conformitate cu prevederile legale actuale, din două părți principale și cuprinde cinci capitole, la care se adaugă introducerea, rezumatul, bibliografia, tabele, figuri și grafice.

Prima parte reprezintă o sinteză a datelor bibliografice cu privire la tema tezei de doctorat, la cadrul natural, condițiile climatice din anii de experimentare, materialul și metodele de cercetare, iar cea de a doua parte prezintă rezultatele cercetărilor proprii, cu privire la subiectul tezei de doctorat.

În urma documentării, am constatat că literatura de specialitate străină este destul de bogată în ceea ce privește cercetările privind sistematica, tehnologia de cultivare și compoziția chimică a acestei plante.

În România, cercetările referitoare la ameliorarea speciei *Digitalis lanata Ehrh.* sunt însă modeste.

Având în vedere importanța speciei *Digitalis lanata Ehrh.*, ne-am propus să inducem o variabilitate mai mare a principalelor caractere morfo-fiziologice și a celor biochimice, prin utilizarea unor mutageni chimici, prin tratamente asupra semințelor și în perioada de vegetație, la nivelul meristemelor apicale, în diferite concentrații și timpi de expunere.

În afară de sporirea cantității de frunze/plantă (producția de drog), principalul criteriu de selecție, în vederea obținerii unor forme noi, va fi cel chimic, respectiv cantitatea de glicozide cardiotonice.

În urma tratamentelor cu agenți mutageni chimici, s-au studiat, efectele acestora, funcție de concentrațiile folosite, asupra unor caractere morfo-fiziologice și biochimice: apariția unor modificări morfologice ale plantelor de degețel (mărimea și forma frunzelor, numărul frunzelor în cadrul rozetei la plantele din anul I de vegetație, greutatea frunzelor proaspete și a acestora după uscarea), indici biochimici (azotul aminic liber, zaharuri totale,

zaharuri reducătoare și izoenzime) și indici fiziologici (activitatea catalazei, durata perioadei de vegetație, rezistența la boli și dăunători etc).

Pe parcursul anilor 2007-2010, s-au efectuat cercetări și observații care au urmărit:

- creșterea variabilității speciei *Digitalis lanata Ehrh.* prin inducerea unor mutații cu ajutorul substanțelor chimice;
- comportarea unor mutante în vederea identificării de forme biologice valoroase, în ceea ce privește productivitatea și conținutul ridicat în principii active;
- determinarea fazelor de creștere și dezvoltare a plantelor în condițiile pedo-climatice din zona Moldovei.
- evaluarea efectului indus de substanțele chimice, asupra particularităților morfo-fiziologice și biochimice la speciei *Digitalis lanata Ehrh.*

Materialul biologic a fost reprezentat de soiul de degețel lănos *Lanata 1*, creat de Silva, F., (1974), la S.C.P.M.A. Fundulea. Soiul a fost omologat în anul 1974 și reînregistrat în anul 1999 în Catalogul Oficial al Soiurilor de Plante de Cultură din România.

Semințele din soiul *Lanata 1* au provenit de la Societatea „Biofarm natura naturans” Băiculești – Curtea de Argeș.

Soiul *Lanata 1* este caracterizat printr-un polimorfism destul de accentuat sub aspectul unor caractere morfo-fiziologice, produce în jur de 1600 kg/ha frunze uscate, cu un conținut mediu de 0,21% lanatozidă C, depășind cu aproape 55% conținutul mediu în acest principiu activ, populațiile locale de degețel lănos.

Materialul biologic, respectiv semințele de degețel lănos au fost tratate cu trei substanțe chimice, în câte patru concentrații fiecare: acidul 2,4 D (0,01%, 0,02%, 0,03% și 0,04%), bromura de etidium (0,01%, 0,02%, 0,03% și 0,04%) și colchicina (0,01%, 0,02%, 0,03% și 0,04%) .

Tratamentele au fost aplicate la semințe, cu timp de acțiune de 3, 6 și respectiv 12 ore, înainte ca acestea să fie semănate în câmp. Chimiosensibilitatea s-a studiat în laborator, prin efectuarea câtorva teste referitoare la capacitatea de germinare a semințelor.

Investigațiile citogenetice au fost realizate pe meristeme radiculare obținute prin germinarea semințelor, iar preparatele microscopice au fost obținute prin metoda elaborată de Feulgen în anul 1924 (Țirdea, 2003).

Cu ajutorul metodelor citogenetice, pe parcursul experimentelor, s-a determinat frecvența și spectrul aberațiilor în ana-telofaza mitozei și s-a evidențiat intensitatea diviziunii celulare sub acțiunea substanțelor mutagene prin calcularea indicelui mitotic.

Cercetările citogenetice s-au realizat în laboratorul de Genetică al USAMV Iași.

Studiul chimic calitativ și cantitativ al frunzelor, s-a realizat pe extracte metanolice și diclormetanice, prin cromatografie în strat subțire și HPLC, la cele 9 linii reținute în urma selecției în cadrul INCDSB/CCB „Stejarul” Piatra-Neamț.

Studiul chimic calitativ a apelat la cromatografia pe strat subțire pentru trei grupe de principii active importante din punct de vedere farmacologic:

- flavonoide
- acizi fenolici
- compuși triterpenici

Determinarea procesului de biosinteză a glucidelor din frunze a urmărit evidențierea capacității de adaptare la mediu și diferențele evidențiate între variantele de tratament în urma acțiunii substanțelor chimice mutagene.

În cazul cercetărilor enzimactice, determinarea activității catalazei în frunze și flori s-a realizat prin metoda gazometrică în laboratorul de Genetică al USAMV Iași.

Analizele biochimice și citogenetice, au constituit un criteriu de selecție a celor mai bune linii care să poată fi propuse ulterior spre omologare și recomandare în producție.

Datele obținute în urma observațiilor și determinărilor efectuate au fost prelucrate statistic conform modelelor consacrate, menționate în literatura de specialitate.

Sensibilitatea la agenții mutageni a speciei *Digitalis lanata Ehrh.*, s-a determinat în trei repetiții, prin calcularea procentuală a energiei germinative și a ritmului de creștere a rădăcinilor și tulpinițelor.

Semnificațiile diferențelor dintre variantele tratate și martor au fost determinate prin metoda diferențelor limită (DL 5%, 1% și 0,1%).

Pentru interpretarea datelor experimentale privind efectul agenților mutageni asupra caracterelor morfo-fiziologice și biochimice din punct de vedere statistic s-au folosit funcțiile standard de statistică ale componentei Microsoft Excel a grupului de programe Microsoft Office 10 pentru sistemul de operare Windows XP.

Pentru determinarea acțiunii mutagenilor chimici asupra plantelor de *Digitalis lanata Ehrh.*, s-au folosit câteva teste recomandate de literatura de specialitate. Astfel, s-au determinat modificările rezultate ca urmare a tratamentelor cu substanțe chimice, asupra unor parametri biometrici și anume: numărul de frunze pe plantă, greutatea frunzelor pe plantă.

Din cauza numărului deosebit de mare de linii rezultate în urma tratamentelor, au fost reținute 9 linii, considerate valoroase pentru caracterele cantitative în ceea ce privește producția de frunze de la fiecare variantă de tratament efectuat la nivelul seminței.

Elementele de biometrie analizate au prezentat variabilitate sub influența tratamentelor aplicate față de martorul netratat cu diferențe mici ne semnificative din punct de vedere statistic.

Activitatea catalazei a fost stimulată de cele trei substanțe chimice studiate, în majoritatea cazurilor înregistrându-se o creștere a activității acestei enzime, exprimată în U.C., pe măsura creșterii concentrațiilor

În ceea ce privește *efectul indus de tratamentul cu substanțe chimice asupra conținutului în glucide din frunze* la specia *Digitalis lanata Ehrh.*, la toate concentrațiile celor trei substanțe folosite în experiență, **cantitatea de diglucide** înregistrează cele mai mari valori în cazul tratamentelor aplicate la semințe cu timp de acțiune 6 ore.

Timpul de acțiune și creșterea concentrației substanțelor contribuie la diminuarea procesului de acumulare a **poliglucidelor solubile** în cazul acidului 2,4 D și a bromurii de etidium.

Cantități apreciabile de **poliglucide insolubile** s-au înregistrat în cazul tratamentelor efectuate la semințe timp de 6 și 12 ore și apoi de tratamentele efectuate timp de 3 ore.

Colchicina a influențat favorabil **fotosinteza** iar concentrațiile aplicate au avut un rol stimulator asupra procesului fotosintetic.

Concentrația clorofilelor este corelată negativ cu cea a substanțelor. Acest lucru sugerează că la concentrații mici ale substanței, efectele toxice sunt mai puțin specifice, în timp ce la concentrații mari depind de aceasta.

Analiza conținutului în polifenoli a materialului vegetal (frunze), pentru anii 2007 și 2010, a evidențiat prezența principiilor active (acizi polifenolici și flavonoide), în conformitate cu etaloanele utilizate. Analiza cumulată a acizilor fenolici a evidențiat faptul că s-au înregistrat valori scăzute ale acestui parametru comparativ cu martorul netratat doar în cazul tratamentului cu colchicină (3 ore).

Media celor doi ani a pus în evidență în cazul tratamentelor cu colchicină (6 ore), acumularea celei mai mari cantități de digoxina.

Colchicina a stimulat sinteza acizilor fenolici la tratamentele aplicate pe semințe în cazul tratamentelor de 6 ore.

Bromura de etidium a stimulat acumularea în frunze a acestor substanțe la tratamentele de 3 ore, după care s-a putut observa o diminuare a procesului de biosinteză pe măsură ce timpul de acțiune al substanței a fost crescut (6 ore).

În concluzie, condițiile climatice ale zonei Iași satisfac cerințele degetelului lănos față de căldură și umiditate, și se poate afirma că din acest punct de vedere specia își poate desfășura integral ciclul de vegetație, iar tratamentele aplicate nu au influențat fazele de vegetație, ele realizându-se la toate variantele în același timp.