

Institutul central de cercetări agricole, București, Laboratorul de plante medicinale și aromatice (cond.: ing. A. Laza, doctor în agronomie)

**COMPONENTELE GLICOZIDICE ALE DEGEȚELULUI LÎNOS
(DIGITALIS LANATA EHRH.) DIN FLORA SPONTANĂ
ȘI DE CULTURĂ**

F. Silva

Dintre speciile genului *Digitalis*, degețelul lînos (*Digitalis lanata Ehrh.*), respectiv totalul glicozidic ori cardenolidele extrase din frunzele plantei, se situează — în lumina cercetărilor întreprinse în ultimele două decenii — pe primul plan în medicația cardiovasculară. Datorită acțiunilor mai rapide și efectului cumulativ toxic mult mai redus, glicozidele din *D. lanata*, în comparație cu cele din alte specii ale genului, sînt preferate în stadiul actual al terapiei unor afecțiuni ale cordului, ceea ce se reflectă și în numărul tot mai mare de preparate pe bază de extrase din frunzele plantei. Această tendință terapeutică s-a conturat pe măsură ce investigațiile biochimice ori farmacologice moderne au precizat natura componentelor glicozidice din *D. lanata* și modul în care acționează.

Într-o recentă lucrare de sinteză F. Kaiser (7) semnalează existența a peste 60 cardenolide primare (genuinice) ori secundare în frunzele de *Digitalis lanata*. Dintre acestea, rămîn în schemele de tratament mai ales componentele principale — lanatozida C, digoxina, lanatozida A, digitoxina și într-o proporție mai restrînsă lanatozida B.

Consecințele de ordin practic ce se desprind din cele arătate se resfrîng și pe planul unei valorificări cît mai optime a materiei prime medicamentoase. Importanță specie medicinală a țării, cu un areal cuprinzînd mai ales sudul României (8), degețelul lînos a fost trecut în ultimul timp în cultură, pentru a satisface cerințele crescînde ale exportului sau industriei chimico-farmaceutice; aproape întreaga cantitate de drog de *D. lanata* care se produce astăzi în România provine din cultură.

În noile condiții ecologice, degețelul lînos a reacționat caracteristic: măsurile specifice de cultură elaborate, precum și lucrările de ameliorare întreprinse asupra speciei au permis obținerea unor forme de înaltă productivitate biologică (9, 10, 11). La sugestia regretatului profesor Dr. E. Kopp (memoriei căruia îi aducem și prin lucrarea de față un pios omagiu), am considerat util a studia comparativ și principalele componente glicozidice din frunzele de *D. lanata* din flora spontană și de cultură. Literatura de specialitate consultată nu oferă vreo referire asupra acestui aspect.

Pe o populație din flora spontană a țării și îmbunătățită prin cultură s-au efectuat, începînd din anul 1958, alegeri repetate a celor mai viguroase exemplare care prezentau totodată un conținut ridicat în glicozide totale și lanatozidă C. Exemplarele alese au fost strict consanguinizate în decurs de mai multe generații, iar descendenții au fost lăsați să se polenizeze liber prin încrucișare înrudită, după metoda SIB (sisters and brothers). Prin această schemă, a fost creat soiul *Lanata-1*, caracterizat față de populația din care provine printr-o serie de deosebiri fundamentale prezentate în tab. 1. și care demonstrează eficiența selecției aplicate.

Creșterea totalului glicozidic ca și a conținutului în lanatozidă C, vizată în procesul de ameliorare, atrage oare modificări calitative în structura com-

plexului glicozidic din frunzele speciei? Pentru elucidarea acestui aspect, au fost luate în studiu, între 1964 și 1966, două culturi experimentale cu soiul *Lanata-1* și două populații din flora spontană, care au servit la crearea soiului:

1. din câmpul experimental de la Moara Domnească, reg. București, în zona de silvostepă a Cîmpiei Române (în centrul arealului speciei în țara noastră);

2. din câmpul experimental de la Fundulea, reg. București, în zona de stepă a Cîmpiei Române (extra-arealic);

3. dintr-un biotop din pădurea Ștefănești, reg. București, în apropierea câmpului experimental de la Moara Domnească;

4. dintr-un biotop din pădurea Cartojani, reg. București, în zona de silvostepă a Cîmpiei Române.

Probele pentru dozări chimice au fost recoltate de la plantele marcate pentru studiu: a) în toamna primului an de vegetație și b) în stadiu generativ, în primăvara anului următor, la butonizare — începutul înfloritului. Ele au fost constituite din frunze ajunse la maturitate tehnică, în vîrstă de 80—90 zile, ale căror conținut — potrivit cercetărilor noastre anterioare (9) — s-a dovedit a fi cel mai mare. Pentru asigurarea unui conținut cît mai ridicat de glicozide și a unei preponderențe maxime a cardenolidelor primare, s-a făcut uscarea la umbră a probelor, urmată de trecerea lor în etuvă la 40°C timp de 6 ore și de menținerea în excicator pînă la analizare (12).

Extragerea totalului glicozidic s-a făcut după *Gstirner* și *Syring* (4), iar dozarea acestuia — după metoda preconizată de *Fuchs* și colab. (1); rezultatele sînt exprimate în mg digitoxină, raportate la 100 g greutate uscată a probelor.

Totalul glicozidic al probelor din culturile experimentale de *Lanata-1* este în medie, în ambii ani de vegetație, cu aproximativ o treime mai mare decît rezultatele omoloage medii din flora spontană (v. tab. 2), relevînd și prin aceasta valoarea biologică diferită a materialului studiat. Se remarcă de asemenea, la toate loturile, conținutul mai redus în glicozide a plantelor aflate în anul al doilea de vegetație față de primul an, ceea ce reprezintă probabil o caracteristică specifică.

Separarea constituenților complexului glicozidic s-a făcut prin cromatografie pe hîrtie Schleicher-Schüll 2040-b (benzi de 18/60 cm, impregnate în formamidă-acetonă 1:4). Din extractul glicozidic, reluat în metanol-cloroform 1:1, s-au pipetat la start cîte 0,05 ml (= 0,128 g plantă) pentru cromatogramele primare. Substanțele de referință provenite din colecțiile Fluka ori puse la dispoziție cu amabilitate de către casa C. F. Boehringer u. Söhne, au fost pipetate alături.

Faza mobilă a fost constituită din sistemul cloroform-tetrahidrofuran-formamidă 50:50:6,5 (5) care asigură o bună separare a componentelor genuinice, cromatografiate descendent. Pentru fracțiunea puternic hidrosolubilă (f.p.h.), denumită astfel de către *Fuchs* și colab. (2), durata cromatografierii a fost de 15 ore. Celelalte fracțiuni primare, începînd cu lanatozida C, au migrat și s-au separat în decurs de 3,5 ore. Benzile dezvoltate în soluție etanolică de acid tricloracetic au fost identificate în UV.

În condițiile noastre de lucru, fracțiunile secundare reprezintă circa o șeptime din totalul glicozidic. Cromatografierea acestora s-a făcut ascendent cu sistemul metiletiletconă—xilen 1:1, saturat în formamidă (6), în decurs de 12 ore; la start, alături de substanțe de referință, au fost pipetate cîte 0,10 ml soluție extractivă, corespunzînd la 0,256 g plantă.

În figurile 1 și 2 sînt transcrise unele cromatograme tipice pentru exemplele din primul și al doilea an de vegetație din flora spontană ori din culturi. În fracțiunea puternic hidrosolubilă (f.p.h., fig. 1. b) au fost identificate în total 16 cardenolide ale căror R_F , după 15 ore de migrare, este cuprins între 0,01—0,21. Un spot de fluorescență galbenă (N 11. R_F 0.15), pre-

Tabelul nr. 1.

Ameliorarea unor însușiri biologice ale degețelului linos
(*Digitalis lanata* Ehrh.)

Indici supuși ameliorării	Pop. spont.	Soiul LANATA-1
— Numărul de frunze bazale din primul an de vegetație	20—30	65,0—90,8 (139)
— Dimensiunile frunzelor bazale din primul an de vegetație		
— în lungime (cm)	15—18	15,3—26,2 (29,5)
— în lățime (cm)	1,5—2,5	2,1—3,6 (4,4)
— Numărul tulpinilor florifere	1—5 (în medie 2,1)	1—12 (în medie 3,9)
— Lungimea racemului spiciform (cm)	10—26	peste 55
— Numărul florilor de pe racemul principal	pină la 90	peste 140
— Conținutul în glicozide al masei foliare (în mg digitoxină la 100 g greutate usc. a probelor)	1040	1560
— dintre care, lanatozidă C	90	160

Tabelul nr. 2.

Conținutul în total glicozidic la loturile studiate de *Digitalis lanata* Ehrh.

Proveniența	Anul I de vegetație			Anul II de vegetație			Anul II față de anul I (val. medii comp.)
	Val. medii	Limitele valorilor	% din mt.	Val. medii	Limitele valorilor	% din mt.	
C. exp. M. Domnească (lot martor)	1609	1334—1820	100,0	1286	1140—1380	100,0	79,9
C. exp. Fundulea	1520	1140—1860	93,5	1234	943—1339	96,0	81,2
Biotop, păd. Ștefănești	932	572—1042	57,9	885	677—943	68,8	95,0
Biotop, păd. Cartojani	1042	833—1234	64,8	833	625—1093	64,8	79,9

Eroarea % = 9,51 ($\alpha = 0,05$)

Tabelul nr. 3.
Conținutul în unele componente glicozidice la loturile studiate de
Digitalis lanata Ehrh.

Fig. nr.	Spotul nr.	Componentele dozate	Cult. experim.				Pop. din. fl. spont.				Eroarea % ($\alpha=0,05$)
			Anul I de veg.		Anul II de veg.		Anul I de veg.		Anul II de veg.		
			Val. medii	Limitele valorilor	Val. medii	Limitele valorilor	Val. medii	Limitele valorilor	Val. medii	Limitele valorilor	
1. b.		Total f.p.h. — dintre care:	885	572—943	625	520—703	625	416—677	465	330—520	8,22
	1	1 ₁ +1 ₂			94		78		70		
	2	2	102		55		24		24		
	3	3	46		31		16		24		
	4	4	78		<4		16		8		
	5	5 ₁ +5 ₂	16		94		102		94		
	6	6 ₁ +6 ₂	123		—		<4		—		
	7	7	8		109		94		70		
	8	8 ₁ +8 ₂	156		16		31		34		
	9	9	46		55		55		40		
	10	10	130		117		148		94		
	12	12	78		31		46		46		
1. a.	1	1	164	130—205	156	140—188	94	62—123	109	55—140	5,82
	2	2	16		8		16		—		
	3	3	8		—		8		<4		
	4	4	109	62—117	86	55—102	46	31—78	40	31—70	13,33
	7	7	31	31—46	24	16—31	62	16—78	31	16—46	16,09
10	10	130	94—164	40	24—46	102	46—130	24	8—16	6,88	
2		Total fr. sec. — dintre care:	220	156—256	140	109—172	156	94—172	123	78—123	14,36
	1	1	24		16		16		16		
	2	2	<4		—		<4		—		
	3	3	8		<4		8		8		
	4	4 ₁ +4 ₂ +4 ₃ +4 ₄	40		40		24		31		
	5	5 ₁ +5 ₂	<4		—		<4		—		
	6	6	8		<4		8		<4		
	7	7 ₁ +7 ₂	31		40		16		24		
	8	8	8		16		8		8		
	10	10 ₁ +10 ₂ +10 ₃ +10 ₄	31		16		16		16		
	11	11	24		—		16		<4		
	12	12 ₁ +12 ₂	8		—		<4		<4		
	13	13 ₁ +13 ₂	16		—		16		<4		
% sec. față de prim.			16,4		14,9		16,4		18,3		

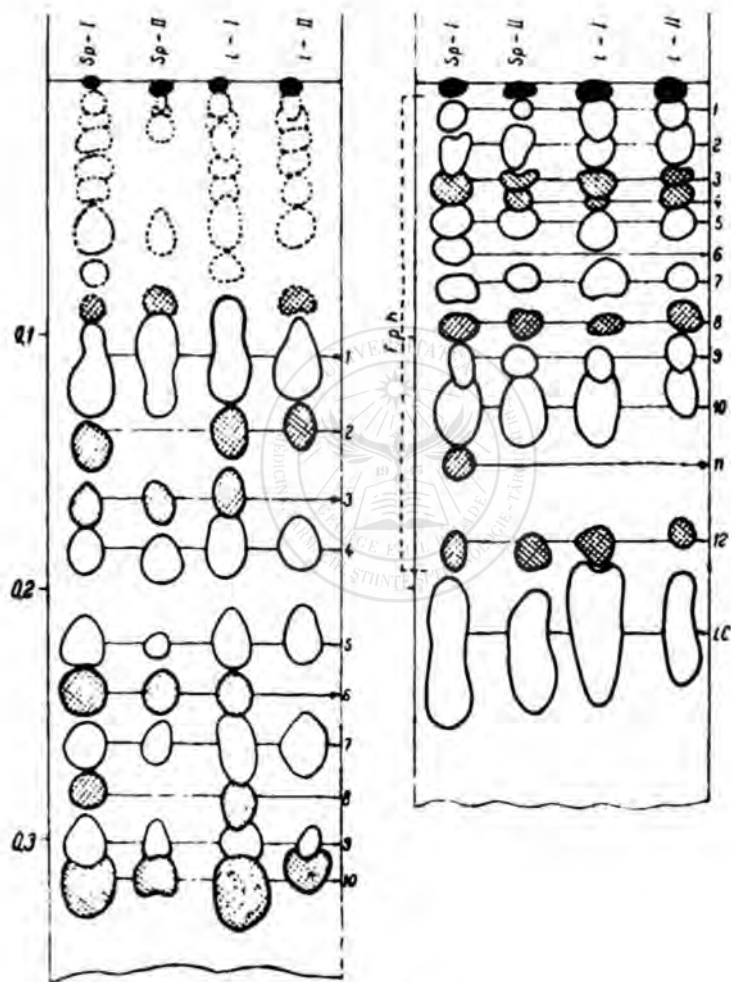


Fig. nr. 1.

Fig. nr. 1: Unele componente glicozidice din cromatogramele fracțiunilor primare la loturile studiate de *Digitalis lanata* Ehrb. Sp-I Pop. din fl. spont. in primul an de vegetație, Sp-II. Idem, in al doilea an de vegetație L-I. Cult. experim. In primul an de vegetație L-II. Idem, in al doilea an de vegetație 1, b: *Fracțiunea puternic hidrosolubilă* (f.p.h.) (valorile RF - după 15 ore), 1. Digitalinum verum (11) + neodigitalinum verum (12), 2. Glucodigoxigenindigitoxozida, 3. Glucodigitoxigenin-glucometilozida, 4. Glucodigitoxigeninacetilglucometilozida, 5. Glucoverodoxina (51) + neoglucoverodoxina (52), 6. Desacetillanatozida C (61) + neodesacetillanatozida C (62), 7. Glucogitorozida, 8. Odorobiozida G (81) + neododorobiozida G (82), 9. Lanatozida D, 10. Glucolanadoxina, 11. Neidentificat, 12. Glucoevatromonozida LC. Lanatozida C, 1, a: (valorile RF-după 3,5 ore) 1. Lanatozida C, 2. Glucodigitoxigeninbisdigitoxozida, 3. Purpureaglicozida A, 4. Lanatozida B, (5. Strospezida; 6. Neidentificat, 7. Lanatozida E, 8. Neidentificat, (9. Verodoxina). 10. Lanatozida A.

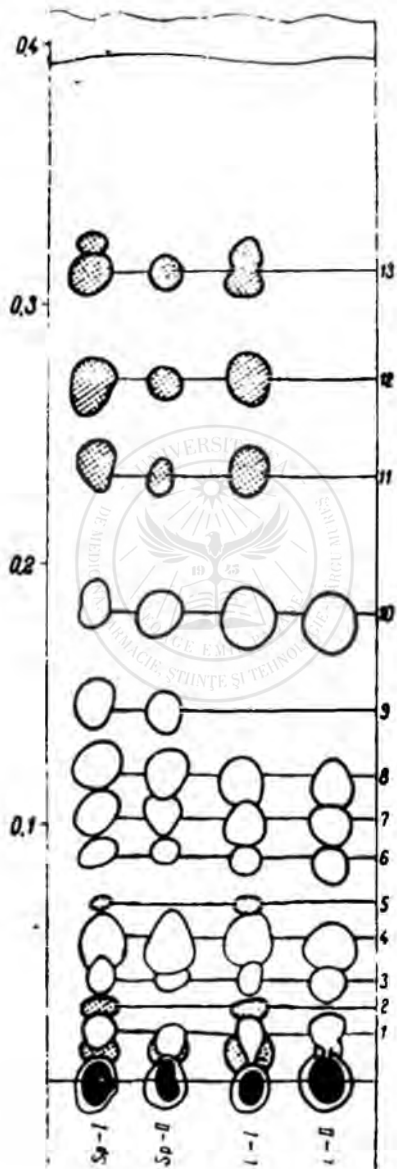


Fig. nr. 2.

Fig. nr. 2: Unele componente glicozidice din cromatogramele fracțiunilor secundare la loturile studiate de *Digitalis lanata* Ehrh. Sp-I. Pop din fl. spont. în primul an de vegetație Sp-II. Idem, în al doilea an de vegetație L-I. Cult. experim. în primul an de vegetație. L-II. Idem, în al doilea an de vegetație Valorile RF - după 15 ore.

1. Strospezida,
2. Digiprozida,
3. Digoxozida,
4. Verodoxina (4₁) + digoxina (4₂) + digoxigeninbisdigitoxozida (4₃) + digoxigenindigitoxozida (4₄),
5. Digitoxigeninallometilozida (5₁) + odorozida H (5₂)
6. Gitoxina,
7. Acetildigoxina alfa (7₁) + acetildigoxina gamma (7₂),
8. Acetildigoxina beta,
9. Neidentificat (Gitoxigenina?),
10. Lanadoxina (10₁) + acetilgitoxina alfa (10₂) + acetilgitoxina beta (10₃) + gitaloxina (10₄),
11. Digitoxina,
12. Evatromonozida (12₁) + digitoxigeninbisdigitoxozida (12₂),
13. Acetildigitoxina alfa (13₁) + acetildigitoxina beta (13₂).

zent doar la exemplarele din flora spontană în stadiu de rozetă, a rămas neidentificat; cardenolidele puternic hidrosolubile corespunzând spoturilor 1, 5, 6 și 8 nu s-au separat.

În transcripția din figura 1 sint redată spoturile celorlalte 10 cardenolide decelate prin cromatografierea primarelor (R_F 0,09—0,34 după 3,5 ore); spoturile 6 (R_F 0,25) și 8 (R_F 0,29), ambele de fluorescență galbenă, au rămas neidentificate.

Fracțiunea secundară numără în cromatogramele noastre (fig. 2) 22 componente cu valori ale R_F de 0,02—0,33 după 12 ore. Spotul 9, situat la R_F 0,14 între acetildigoxină beta și lanadoxină nu a fost descifrat.

Din analiza cromatogramelor ambelor figuri se poate deduce în primul rînd că *D. lanata*, trecută în cultură, își păstrează spectrul glicozidic caracteristic. Condițiile de cultură nu aduc așadar remanieri calitative însemnate în structura cardenolidică a speciei. În al doilea rînd apare caracteristic, pentru populațiile spontane ori de cultură studiate, reducerea spectrului glicozidic în anul II de vegetație. Această reducere afectează esențial cardenolidele primare ori secundare din seria A, digitoxigenică ale căror spoturi sint definite hașurat în figurile 1 și 2.

Pe lângă analiza calitativă a complexului glicozidic, ni s-a părut necesar a pune în evidență și eventualele modificări de ordin cantitativ ale principalelor componente separate cromatografic. Dozările cantitative în acest scop s-au făcut prin metoda „jumătăților de benzi”. Pe prima jumătate au fost identificate, după tehnica descrisă, spoturile de cardenolide genuine ori secundare; din a doua jumătate au fost decupate porțiunile corespunzătoare spoturilor respective și care după eluare în metanol, au fost dozate fotocolorimetric.

Fracțiunea puternic hidrosolubilă a fost dozată integral prin decuparea întregului sector; unele din componentele acesteia au putut fi analizate cantitativ și separat.

Tabelul nr. 4.

Creșterea totalului glicozidic și a principalelor sale componente primare în culturile experimentale de *Digitalis lanata* Ehrh., comparativ cu populațiile din flora spontană

	Anul I de veg.		Anul II de veg.	
	In val. abs.	%	In val. abs.	%
Total glicozidic	578	58,5	351	40,8
— dintre care:				
total f.p.h.	260	41,6	160	34,4
lanatozida A	28	27,4	16	85,5
lanatozida B	63	136,9	46	115,0
lanatozida C	70	74,4	47	43,1

Rezultatele acestei serii de determinări sint cuprinse în tabelul 3. Ele învederează că nivelului general mai scăzut al totalului glicozidic din anul al doilea de vegetație față de primul îi corespund:

a) un conținut mult redus în lanatozidă A și alte componente din seria digitoxigenică;

b) un conținut intrucîtva redus, fără variații semnificative, în lanatozidă B și alte componente din seria gitoxigenică;

c) un conținut egal ori chiar mai ridicat în lanatozidă C și alte componente din seria digoxigeninică.

În timp ce analizele calitative nu au arătat modificări ale spectrului glicozidic sub influența noilor condiții de mediu, dozările cantitative atestă că conținutul mai ridicat de glicozide al culturilor experimentale reflectă cu o aproximație suficientă și proporțiile mai mari ale principalelor componente cardenolice din frunzele plantelor de cultură. Comparând pe baza datelor din tabelele 2 și 3, valorile medii obținute în culturile experimentale, cu cele ale populațiilor din flora spontană, se constată sporuri ale totalului f.p.h. și ale principalelor lanatozide, sporuri care se conjugă — în ambii ani de vegetație a plantațiilor — cu cele înregistrate la totalul glicozidic (tabelul 4). Creșteri valorice similare se pot deduce și pentru celelalte componente ale complexului glicozidic.

În toate determinările noastre, fracțiunea puternic hidrosolubilă formează mai mult de jumătate din complexul glicozidic, în timp ce suma lanatozidelor A, B și C nu depășește o treime a acesteia. În condiții identice de lucru, rezultatele obținute de alți autori marchează unele diferențe. Fără a efectua o separare a componentelor din f.p.h., Fuchs, Wichtl și Jachs (3) apreciază, prin dozare globală, că această fracțiune reprezintă până la două cincimi din suma glicozidelor; pentru lanatozidele A+B+C se indică valori mergând până la jumătate din totalul determinat. Asemenea variații ale conținutului se încadrează, după părerea noastră, în limitele biologice ale speciei.

Concluzii

1. Prin cromatografiere de repartitie pe hartie s-au decelat și s-au dozat ulterior 42 fracțiuni cardenolice, primare și secundare (formind cvasi-totalitatea complexului glicozidic) din frunzele de *Digitalis lanata Ehrh.* cultivată și spontan.

2. Influența condițiilor de mediu, create prin trecerea în cultură a speciei, se exprimă, pe lângă ameliorarea unor însușiri biomorfologice, în creșteri simțitoare ale totalului glicozidic, corelate de conținutul sporit al fracțiunilor cardenolice studiate.

3. Prin trecerea în cultură a speciei nu se produc modificări calitative importante în spectrul ei glicozidic.

4. Atât în cultură, cât și în flora spontană, plantele aflate în stadiu generativ au un conținut total în glicozide mai scăzut decât al plantelor aflate în stadiu vegetativ.

5. Componentele glicozidice din seria digitoxigeninică se găsesc în țesuturile foliare ale plantelor din anul al doilea de vegetație în cantități mult reduse față de primul an, în timp ce valorile componentelor digoxigeninice sînt staționare ori chiar mai ridicate. Aceste variații sînt de asemenea caracteristice plantelor cultivate, cât și celor care cresc spontan.

Sosit la redacție: 18 noiembrie 1966.

Bibliografie

1. FUCHS L. și colab.: Arch. d. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. (1958), 291/63, 193; 2. FUCHS L. și colab.: Arch. d. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. (1959), 292/64, 15; 3. FUCHS L. și colab.: Arch. d. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. (1960), 293/65, 414; 4. GSTIRNER F., SYRING H.: Arch. d. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. (1961), 294/66, 783; 5. HAACK E. și colab.: Arzneimittel-Forschung (1956), 6, 4, 176; 6. KAISER F.: Chem. Ber. (1955), 88, 556; 7. KAISER F.: Arch. d. Pharmaz. (1966), 299, Heft 3, 263; 8. SĂVULESCU T. (red. princ.): Flora R.P.R., VII, 570. Ed. Academiei (1960); 9. SILVA F.: Probl. agricole (1966), 18, 4, 70; 10. SILVA F.: Planta Medica (1966), 14, Heft 3, 302; 11. SILVA F., MIHALEA A., PĂUN E.: Analele ICCPT, 32, seria B (1964); 12. SILVA F., CONSTANTINESCU C.: Analele ICCPT, 33, seria B (1965).