

## CONTRIBUȚII LA STUDIUL CHEMOTAXONOMIC AL UNOR SPECII DE VALERIANĂ

SILVIA MIHĂILESCU-FIREA și O. CONTZ

În lucrarea de față s-a efectuat un studiu chemotaxonomic asupra a 10 specii de *Valeriana* asemănătoare cu specia tipică *V. officinalis*, în scopul găsirii unor criterii noi pentru diferențierea lor și pentru a stabili care dintre ele (în afară de *V. officinalis*) ar putea constitui o materie primă bogată în principii active pentru industria noastră farmaceutică. S-a determinat conținutul în ulei volatil și identificarea chimico-cromatografică a valepotriatilor și alcaloizilor.

Printre plantele medicinale utilizate de multă vreme în terapeutică și apreciate încă în mod deosebit și în zilele noastre se numără și *Valeriana officinalis* din familia Valerianaceae.

Această familie cuprinde 13 genuri (cu cca 360 specii) dar în țara noastră este reprezentată numai de 3 genuri: *Valeriana* cu 7 specii, *Valerianella* cu 10 specii și *Centranthus* cu o singură specie cultivată.

*Valeriana officinalis* este o specie eurasiatică neobișnuit de polimorfă studiată îndeaproape de numeroși botaniști și a fost diferențiată într-un mare număr de taxoni nu întodeauna foarte bine concretizați.

După cum menționează autorul Tobias Maijers (4) specia *Valeriana officinalis* este interpretată botanic altfel în Anglia decât în R. D. Germană, R. F. Germania, Scandinavia sau U.R.S.S. Aceasta se datorește în parte că, materialul de *Valeriana* a fost prelucrat de botaniști care aveau păreri foarte diferite între ei în ceea ce privește acest polimorfism și în parte și faptului că în cadrul *Valerianei officinalis* (sensul larg) apar numeroase varietăți ecologice și geografice. După cum arată, populațiile de *Valeriana officinalis* din Europa de Vest se deosebesc în multe privințe de cele din Europa de Est. De altfel s-a remarcat că polimorfismul speciei crește de la vest către est. Acest fapt explică probabil și de ce majoritatea taxonilor diferențiați de diverși autori din

*Valeriana officinalis* au fost mai numeroși în partea centrală și răsăriteană a Europei.

Avînd în vedere neclaritățile care există în ceea ce privește speciile de *Valeriana* ne-am propus să efectuăm un studiu botanic și chimic prin care să stabilim unele criterii obiective de diferențiere asupra a 10 specii cultivate în Grădina Botanică din București foarte asemănătoare cu *Valeriana officinalis*. Aceasta atît din dorința de a elucida neclaritățile respective cît și pentru a stabili care dintre aceste specii în afară de *Valeriana officinalis* ar putea constitui o materie primă bogată în principii active pentru industria noastră farmaceutică.

În tabelul nr. 1 dăm lista speciilor studiate cu indicația de unde a provenit materialul de înmulțire.

TABELUL Nr. 1

Nr. crt.	Genul și specia	Proveniența materialului	Originea	Țara
1.	<i>Valeriana exaltata</i> Mink.	Hortus Botanicus Univ. Vilnius	Cultivat	U.R.S.S.
2.	<i>Valeriana japonica</i> Mig.	Bot. Sad. Im. V. Komarova Leningrad	Cultivat	U.R.S.S.
3.	<i>Valeriana nitida</i> Kreyer	Hort. Bot. Acad. Scientiarum Vačratot	Cultivat	R.P.U.
4.	<i>Valeriana officinalis</i> L.	M-ții Bucegi Sinaia	Spontan	R.S.R.
5.	<i>Valeriana pyrenaica</i> L.	Muzeum Nat. d'Hist. Naturelle Paris	Cultivat	Franța
6.	<i>Valeriana salina</i> Pleijel	Univ. Bot. Trädgard Uppsala	Cultivat	Suedia
7.	<i>Valeriana sambucifolia</i> Mik.	M-ții Bucegi Sinaia	Spontan	R.S.R.
8.	<i>Valeriana stolonifera</i> Czern.	Pădurea Hagieni România	Spontan	R.S.R.
9.	<i>Valeriana tuberosa</i> L.	Hort. Bot. Acad. Vačratot	Cultivat	R.P.U.
10.	<i>Valeriana wolgensis</i> Kosak	Hort. Bot. Alp. Kirovsk	Cultivat	U.R.S.S.

Rezultatele studiilor anatomo-morfologice efectuate asupra acestor specii fac obiectul unei alte lucrări. Menționăm însă că din acest punct de vedere speciile studiate s-ar putea grupa astfel :

*grupa I* : *V. officinalis* și *V. stolonifera* sînt plante ce ating înălțimi pînă la 1,50 m cu 3—4 internoduri, cu frunze ce au 8—10 perechi de foliole. Flori roz-violacee.

*grupa II* : *V. exaltata*, *V. nitida*, *V. tuberosa*, *V. wolgensis* cu înălțimea medie 1,70 m cu 3—5 internoduri, iar frunzele cu 5—7 perechi foliole. Flori alb-roz.

*grupa III* : *V. sambucifolia* și *V. pyrenaica*, înălțimea medie 80—100 cm cu 3 internoduri și frunzele alcătuite din 3—5 perechi de foliole. Florile alb-roz și se deschid cu cca 2 săptămîni mai tîrziu decît *V. officinalis*.

*grupa IV* : *V. salina*, plantă relativ scundă (0,50 m), tulpina roșcată la culoare florile roz-violacee se deschid tot ceva mai tîrziu. Frunzele alcătuite din cîte 5 perechi de foliole mai înguste.

*grupa V* : *V. japonica* ce are o culoare verde intens și este foarte păroasă toată tulpina. Nervaturile accentuate încît foliolele sînt foarte brăzdate de nervurile secundare. Marginea foliolelor este adînc crenată. Flori alb-roz-pal.

În lucrarea de față vom expune studiile analitice efectuate cu privire la determinarea conținutului în ulei volatil și la identificarea chimico-cromatografică a valepotriaților și alcaloizilor care reprezintă cele mai importante categorii de principii active existente în *Valeriana officinalis*.

Conținutul în ulei volatil constituie singurul criteriu cantitativ înscris în Farmacopeea Română VIII pentru aprecierea rizomilor și rădăcinilor de *Valeriana*. Din lipsa unor cantități corespunzătoare pentru determinarea uleiului volatil am efectuat aceste delimitări numai pentru speciile : *V. officinalis*, *V. sambucifolia* și *V. stolonifera*, originare din țara noastră, obținînd următoarele rezultate :

<i>V. officinalis</i>	= 0,40 ml % <sub>0</sub> ulei volatil
<i>V. sambucifolia</i>	= 0,28 ml % <sub>0</sub> ulei volatil
<i>V. stolonifera</i>	= 0,45 ml % <sub>0</sub> ulei volatil

Sub numele generic de valepotriați se înțelege o categorie nouă de substanțe naturale izolate în 1966 de Thies și colaboratorii (7). Dintre aceștia cei mai activi s-au dovedit a fi valtratum, didrovaltratum, acevaltratum și ceea ce a determinat utilizarea lor în terapeutică în stare pură, precum și înscrierea reacției de identificare a valepotriaților printre parametrii de calitate prevăzuți la „*Radix Valerianae*“, din ed. VII a farmacopeelor din R.D.G. și R.F.G.

Pentru identificarea chimică a valepotriaților am utilizat reacția de culoare a acestora cu acidul clorhidric descrisă de E. Stahl și W. Schild (6). Am luat în lucru cantități egale de plantă și volume egale de soluții pentru a putea compara rezultatele obținute. Toate cele 10 specii au dat pozitiv această reacție, diferențele observîndu-se numai între intensitățile și nuanța colorațiilor obținute după cum urmează :

*Valeriana officinalis* și *Valeriana sambucifolia* au dat colorații identice foarte intense.

Valeriana tuberosa, Valeriana wolgensis, Valeriana exaltata, Valeriana nitida, Valeriana stolonifera au dat colorații identice dar de intensitate medie.

Valeriana japonica și Valeriana salina au dat colorații identice dar de intensitate slabă.

Valeriana pyrenaica a dat o colorație verzuie care cu timpul trece în albastru închis, opacizându-se ceea ce denotă fie anumite diferențe între structura valepotriaților existenți în această specie și celelalte, fie existența unor substanțe care interferează cu reactivii utilizați.

Pentru identificarea valepotriaților existenți în speciile studiate de noi am utilizat cromatografia în strat subțire căutând să punem în primul rând în evidență prezența în plante a celor trei valepotriați principali menționați mai sus. Pentru cromatografie am utilizat extractele obținute în condiții identice de la cantități egale de rădăcini și rizomi provenind de la cele 10 specii conform metodei lui Stahl (6).

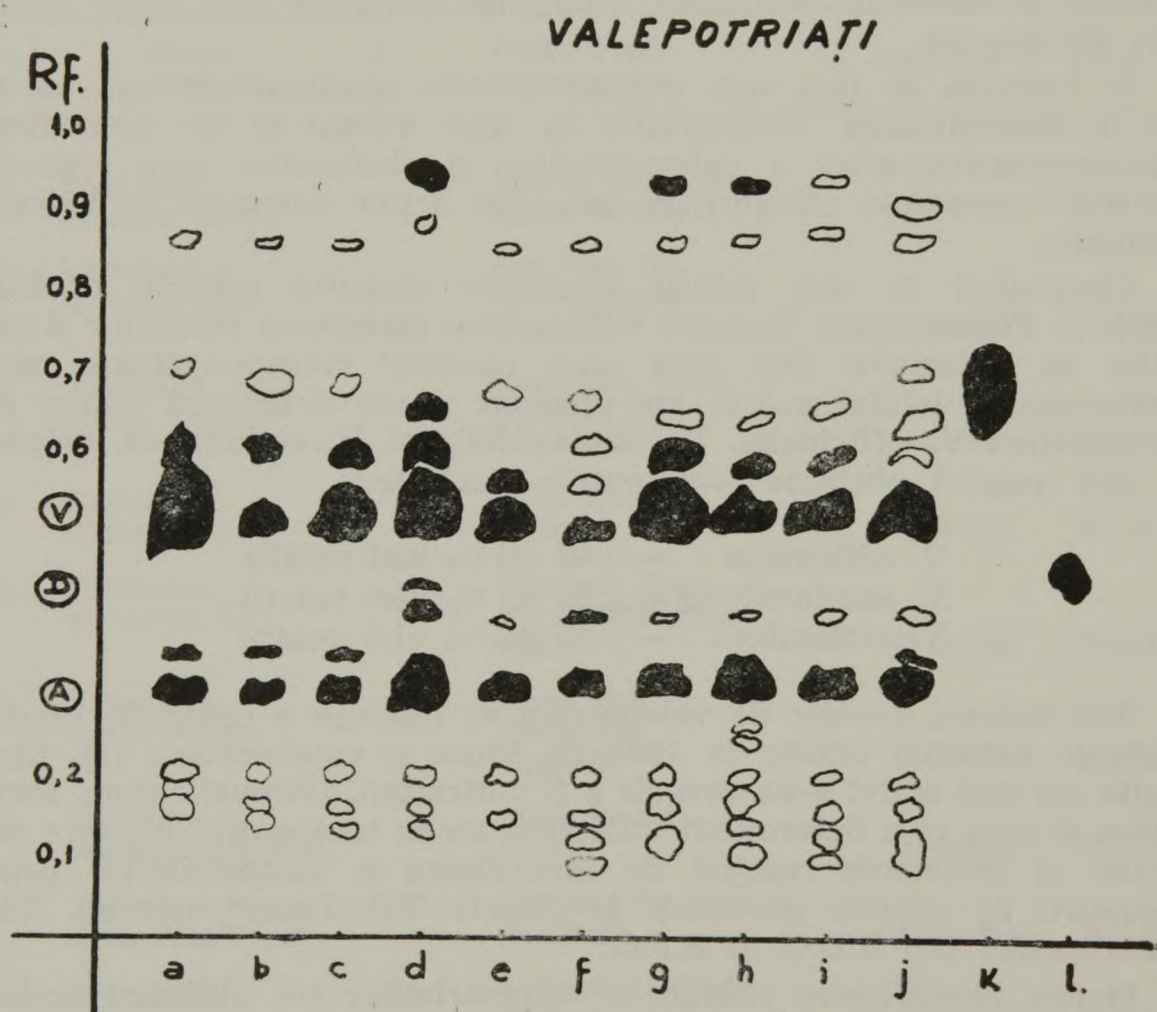


Fig. 1. Repartizarea schematică a cromatogramei valepotriaților

V = Valtrat  
D = Didrovaltrat  
A = Acevaltrat

a) *V. tuberosa*  
b) *V. exaltata*  
c) *V. salina*  
d) *V. wolgensis*  
e) *V. officinalis*  
f) *V. japonica*

g) *V. nitida*  
h) *V. sambucifolia*  
i) *V. officinalis*  
j) *V. pyrenaica*  
k) vanilina  
l) anizaldehidă

Studiind fig. nr. 1 se constată că valtratum este prezent în toate speciile în cantități apreciabile dar mult diferite de ele. Didrovaltratum este de asemenea prezent însă în cantități extrem de mici în toate speciile, cantitățile cele mai mari aflându-se în speciile *Valeriana wolgensis*, *Valeriana nitida* și *Valeriana sambucifolia*. Acevaltratul se află prezent în toate speciile în cantități mai mari decât didrovaltratul dar sensibil mai mici decât valtratul.

După aspectul total al cromatogramelor obținute pentru identificarea valepotriaiților speciile studiate se pot grupa după cum urmează :

grupa I : *V. officinalis*, *V. nitida*, *V. sambucifolia*, *V. tuberosa*, *V. wolgensis*,

grupa II : *V. exaltata*, *V. japonica*, *V. salina*

grupa III : *V. stolonifera*

grupa IV : *V. pyrenaica*.

După cum reiese din literatură în ultimii ani s-a izolat din rădăcinile de Valeriană o serie de alcaloizi dotați cu acțiune sedativă dar care

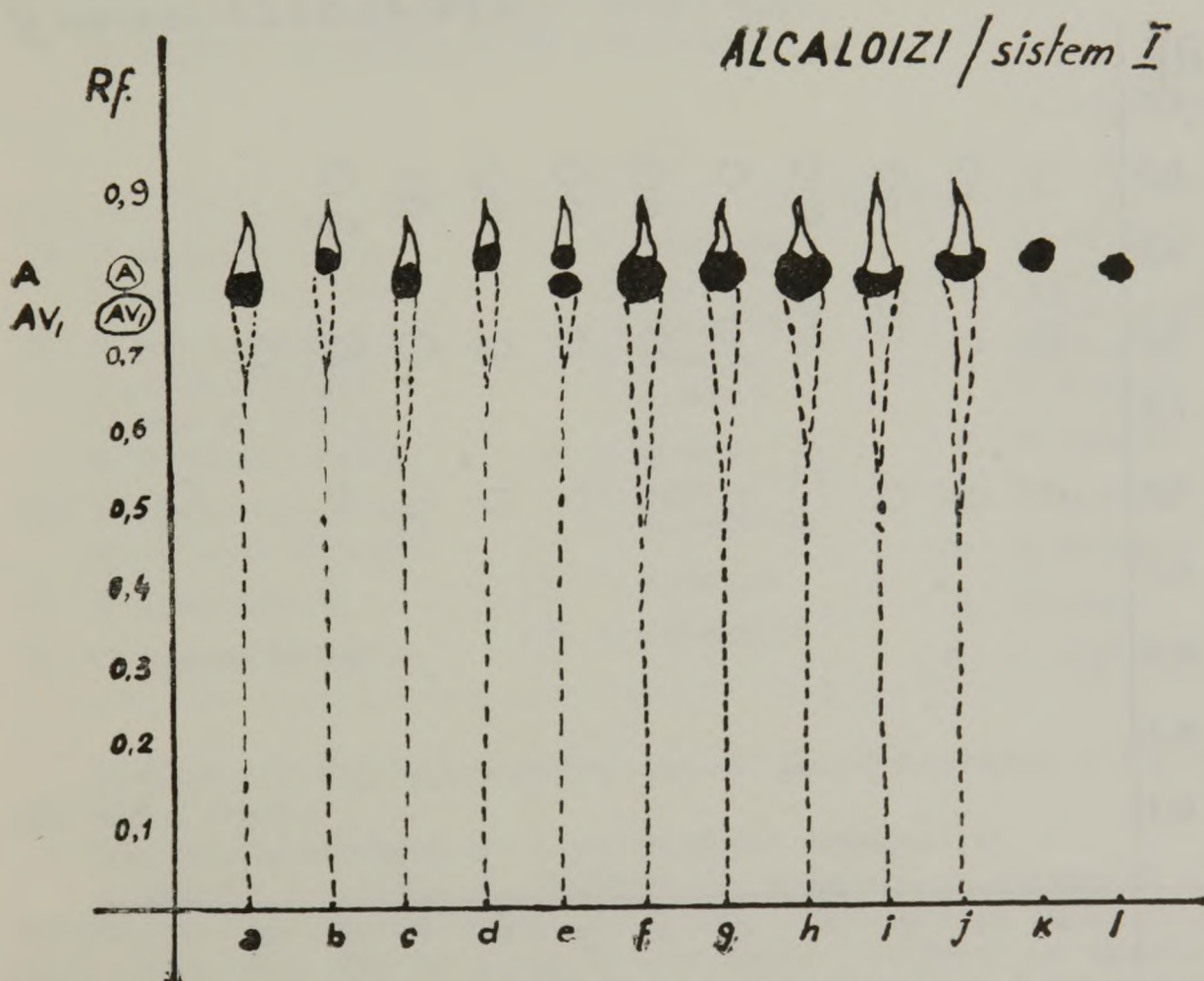


Fig. 2. Repartizarea schematică a cromatogramei alcaloizilor prin sistemul I.

- a) *V. tuberosa*
- b) *V. sambucifolia*
- c) *V. exaltata*
- d) *V. pyrenaica*
- e) *V. salina*
- f) *V. officinalis*

- g) *V. nitida*
- h) *V. japonica*
- i) *V. wolgensis*
- j) *V. stolonifera*
- k) actinidina
- l) AV<sub>1</sub>

În general se află în plantă în cantități prea mici pentru a fi responsabili în totalitate de acțiunea farmacodinamică a plantei. Dintre acești alcaloizi actinidina și alcaloidul AV<sub>1</sub> izolat de un colectiv din I.C.S.M.C.F. din planta care crește în țara noastră se află în cantități mai mari (1).

Pentru identificarea alcaloizilor am utilizat o reacție de precipitare cu soluție 10% acid silicotungstic a acestora din extractele de plantă obținute prin extracție cu cloroform din planta alcalinizată cât și cromatografia în strat subțire de Silicagel G în două sisteme de dizolvanți :

- I. alcool metilic
- II. acetat de etil : propanol (55 : 45).

Toate extractele au dat precipitate abundente cu acidul silicotungstic ceea ce denotă prezența alcaloizilor în toate speciile studiate.

Din studiul cromatogramelor obținute cu ajutorul sistemului a, fig. 2, se constată de asemenea existența alcaloizilor în toate speciile studiate

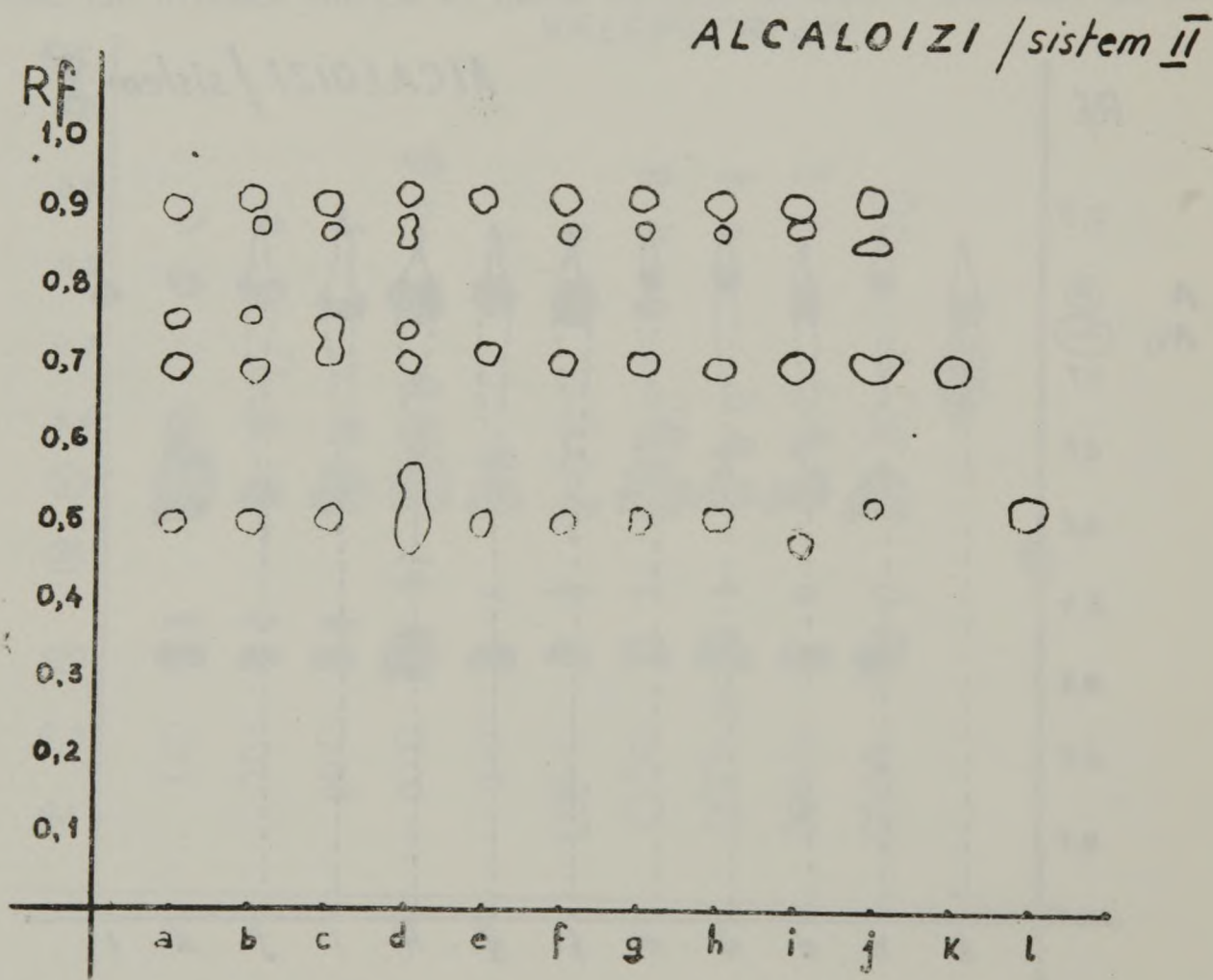


Fig. 3. Reprezentarea schematică a cromatogramei alcaloizilor prin sistemul II.

- |                           |                          |
|---------------------------|--------------------------|
| a) <i>V. tuberosa</i>     | g) <i>V. nitida</i>      |
| b) <i>V. sambucifolia</i> | h) <i>V. japonica</i>    |
| c) <i>V. exaltata</i>     | i) <i>V. wolgensis</i>   |
| d) <i>V. pyrenaica</i>    | j) <i>V. stolonifera</i> |
| e) <i>V. salina</i>       | k) actinidina            |
| f) <i>V. officinalis</i>  | l) AV <sub>1</sub>       |

dar deoarece acest sistem nu are o putere de separare prea mare nu se pot trage concluzii cu privire la componența în alcaloizi a speciilor respective.

Analizînd fig. 3, se constată că speciile *V. officinalis*, *V. nitida*, *V. sambucifolia*, *V. tuberosa*, *V. wolgensis* prezintă cromatograme identice în care se află prezente spoturile corespunzătoare actinidinei și alcaloidului AV<sub>1</sub>. Celelalte 5 specii *V. exaltata*, *V. japonica*, *V. pyrenaica*, *V. salina*, *V. stolonifera* prezintă cromatograme diferite între ele care se deosebesc și de cromatogramele primelor 5 specii.

### Discuții

Pentru a putea compara rezultatele obținute dăm mai jos un tabel centralizat al speciilor studiate, grupate în funcție de :

- a) caracterele anatomo-morfologice
- b) aspectul cromatogramelor valepotriaților
- c) aspectul cromatogramelor alcaloizilor

TABELUL Nr. 2

a	b	c
I. <i>V. officinalis</i> (R.S.R.) <i>V. stolonifera</i> (R.S.R.)	I. <i>V. officinalis</i> <i>V. nitida</i> <i>V. sambucifolia</i>	I. <i>V. officinalis</i> <i>V. nitida</i> <i>V. sambucifolia</i>
II. <i>V. exaltata</i> (R.P.U.) <i>V. nitida</i> (U.R.S.S.) <i>V. tuberosa</i> (R.P.U.) <i>V. wolgensis</i> (U.R.S.S.)	<i>V. tuberosa</i> <i>V. wolgensis</i>	<i>V. tuberosa</i> <i>V. wolgensis</i>
III. <i>V. sambucifolia</i> (R.S.R.) <i>V. pyrenaica</i> (Franța)	II. <i>V. exaltata</i> <i>V. japonica</i> <i>V. sambucifolia</i>	II. <i>V. exaltata</i> III. <i>V. japonica</i>
IV. <i>V. salina</i> (Suedia)	III. <i>V. pyrenaica</i>	IV. <i>V. pyrenaica</i> V. <i>V. salina</i>
V. <i>V. japonica</i> (U.R.S.S.)	IV. <i>V. stolonifera</i>	VI. <i>V. stolonifera</i>

În tabel sînt subliniate speciile care se găsesc în aceeași grupă pentru cele 3 criterii.

Din analiza tabelului nr. 2 am constatat următoarele :

— speciile *V. nitida*, *V. tuberosa*, *V. wolgensis* se aseamănă între ele din punct de vedere botanic cît și prin cromatograma valepotriaților și al alcaloizilor. Ele ar putea fi considerate ecotipuri ale speciei *V. officinalis* atît pe baza asemănării morfologice cît și pe baza cromatogramelor valepotriaților și al alcaloizilor.

— Deși relativ asemănătoare morfologic speciile *V. officinalis* și *V. stolonifera* se pot diferenția între ele prin cromatogramele valepotriaților și alcaloizilor ceea ce justifică interpretarea lor ca specii diferite. La fel *V. exaltata* se poate diferenția de celelalte specii din gr. a II-a prin cromatogramele valepotriaților și alcaloizilor.

— *V. sambucifolia* și *V. pyrenaica* din grupa a III-a se pot deosebi între ele prin cromatogramele valepotriaților și alcaloizilor.

— Speciile *V. salina* și *V. japonica* pot fi considerate ca specii aparte deoarece prezintă caractere chemotaxonomice distincte.

Corelînd constatarea de mai sus și cu originea geografică a acestor specii se confirmă afirmația lui Meijers cu privire la existența în Europa centrală și răsăriteană a unui polimorfism accentuat al speciei *V. officinalis* ce a dus la transformarea unor ecotipuri în specii distincte.

Putem astfel afirma că prin aplicarea cromatografiei în strat subțire a valepotriaților și a alcaloizilor se pot obține criterii noi pentru caracterizarea chemotaxonomică a speciilor de *Valeriana*.

În ceea ce privește speciile din țara noastră se constată că doar *Valeriana stolonifera* are un conținut în ulei volatil ceva mai mare decât *Valeriana officinalis* conținînd și pe cei 3 valepotriați mai importanți. Pe baza acestor date propunem să fie introdusă în cultură avînd în vedere și faptul că dispune de stoloni care oferă posibilitatea obținerii unei cantități mai mari de rizomi și rădăcini decât *Valeriana officinalis*.

## Concluzii

Ca urmare a studiilor chemotaxonomice efectuate asupra speciilor de *Valeriana exaltata*, *V. nitida*, *V. officinalis*, *V. pyrenaica*, *V. salina*, *V. sambucifolia*, *V. stolonifera*, *V. tuberosa*, *V. wolgensis*, *V. japonica* am tras următoarele concluzii :

— s-a pus la punct un sistem de caracterizare chemotaxonomic al speciilor de *Valeriana* cu ajutorul cromatografiei în strat subțire a valepotriaților și alcaloizilor,

— *V. nitida*, *V. tuberosa* și *V. wolgensis* pot fi considerate ecotipuri ale speciei *V. officinalis* cu care se aseamănă atît morfologic cît și chemotaxonomic.

— *V. stolonifera* poate fi introdusă în cultură pentru a fi utilizată ca materie primă în industria noastră farmaceutică.

## Partea experimentală

I. *Determinarea conținutului în ulei volatil.* Această determinare s-a efectuat conform metodei din Farmacopeea Română, ed. VIII, pag. 784, luînd în lucru 50 gr pulbere de rădăcini și rizomi de *Valeriană*.

II. *Identificarea valepotriaților.*

a) *Prepararea extractului de analizat.* 0,2 gr pulbere sau extras prin agitare 5' într-un flacon peste care am pus 5 ml diclormetan după care s-a filtrat prin vată spălîndu-se cu alți 2 ml diclormetan. Filtratul obținut este concentrat prin baia de apă pînă la îndepărtarea totală a solventului. Reziduul obținut se dizolvă în 0,2 ml metanol. Din această cantitate se folosește 0,1 ml pentru reacția de culoare, iar restul pentru cromatografie.



b) *Reacția de culoare.* (Schild) 0,1 ml soluție de analizat se tratează într-o eprubetă cu 3 ml dintr-un amestec o parte acid acetic plus o parte acid clorhidric 25%. Se agită de mai multe ori și după 15' trebuie să apară o culoare albastră clară.

c) *Cromatografia în strat subțire.* S-a efectuat conform metodei lui Stahl picurînd pe fiecare spot 0,05 ml din soluția metanolică obținută la punctul a (6). Ca martor am utilizat o soluție care conține 10 mg vanilină și 10 mg anizaldehidă în 10 ml metanol. Identificarea valepotriaiților am făcut-o pe baza valorilor R<sub>f</sub> a valtratului, didrovaltratului și acevaltratului față de cele două substanțe martor. În fig. 1 am redat direct pentru simplificarea valorilor R<sub>f</sub> ale valepotriaiților.

### III. Identificarea alcaloizilor :

a) *Obținerea extractului* de analizat s-a făcut din 5 gr pulbere de rădăcină și rizomi ce s-au alcalinizat cu 3 ml amoniac soluție 25% și se agită 15' cu 25 ml cloroform. După filtrarea cloroformului prin vată se repetă extracția cu 15 ml și apoi 10 ml cloroform. Extractele cloroformice reunite se trec într-o pîlnie de separație și se extrag de trei ori cu cîte 20 ml acid sulfuric soluție 3%. Lichidele acide reunite se alcalinizează cu amoniac 25% și se extrag de trei ori cu cîte 15 ml cloroform. Extractele cloroformice au fost anhidrizate cu sulfat de sodiu sic după care se concentrează la sec pe baia de apă. Reziduul obținut se dizolvă în 0,1 ml cloroform din care 0,05 ml se utilizează pentru reacția de precipitare, iar 0,05 ml pentru cromatografia în strat subțire.

b) *Reacția de precipitare.* 0,05 ml din soluția cloroformică obținută conform punctului a), se evaporă la sec. Reziduul se dizolvă în 1 ml acid clorhidric soluție 10% și se tratează cu 1 ml acid silicotungstic soluție 10%. Se obține un precipitat alb.

c) *Cromatografia în strat subțire.* Am efectuat-o pe plăci de silicagel G. Merk 0,25 mm grosime cu ajutorul a 2 sisteme de solvenți : I, alcool metilic și II, acetat de etil : propanol (55 : 45).

Pe fiecare spot am picurat 0,05 ml din soluția cloroformică obținută la punctul a).

Pentru punerea în evidență a spoturilor am pulverizat plăcile cu reactiv Dragendorff modificat (5). Ca martor am utilizat soluții cloroformice 1% de actinidină și alcaloid AV<sub>1</sub> picurînd cîte 0,05 ml din fiecare. Cromatogramele obținute sînt redată în fig. 2 și 3.

### BIBLIOGRAFIE

CIONGA E., O. CONTZ, V. GEORGESCU, *Cercetări asupra compoziției alcaloidice a plantei de Valeriana officinalis. Izolarea actinidinei și a unui nou alcaloid Valerianona.* Comunicare la sesiunea științifică a I.C.S.M.C.F. 1973.

\* \* \* *Farmacopeea Română*, Ed. VIII, pag. 784—786. Edit. Medicală, București, 1965.

FRANK B., PETERSEN U., HUPER F., *Angew. Chem.* 82, 875 (1970).

GROSS D., EDNER G., SCHUTTE H. R., *Arch. Pharmazie* 304, 19, 1971.

- MEIJERS TOBIAS, *En onderzoek von het Linneon Valeriana officinalis L. in Nederland* — 1957.
- MUNIER R., MACHEBOEUF M., *Microchrommatographie de partage des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques*. Bull. Sos. Chim. Biol. (Paris), 1949, vol. 31, nr. 5—6, pag. 1144—1162.
- Arzneibuchdrogen Baldrianwurzel*, 1969, *Arzneimittel-Forsch* 19, Jahrgang, nr. 3.
- THIES P. W., S. FUNKE, *Nachweis und Isolierung von sedativ wirksamen isovaleriansäureestern aus Wurzeln und Rhizomen von verschiedenen Valeriana- und Kentranthusarten*. Organic chemistry — Tetrahedron Letters, 1966, nr. 11.
- TORSELL K., WAHLBERG K., *Tetrahedron Lettres*, 1966, (4), pag. 445—448.
- WAGNER H., SCHAETTE R., HORHAMMER L., HOLZL J., *Arzneimittel-Forschung* (Drug Res.) 22, 1204—1209, 1973.
- WAGNER H., HORHAMMER L., HOLZL J., SCHAETTE R., *Arzneimittel-Forschung* (Drug Res.) 20, 1149, 1970.

## CONTRIBUTIONS TO THE CHEMICAL-TAXONOMIC STUDY OF SOME VALERIANA SPECIES

### Summery

The present chemical taxonomic study was made on ten species of *Valeriana* similar to the typical species *V. officinalis*, in order to find new criteria for their differentiation and to see if any them (except *V. officinalis*) may be a raw material rich in useful active element for the Rumanian pharmaceutical industry. The volatile oil content was appraised and the valepotriates and the alkaloids were chemically and chromatographically analysed.

It was found that *V. nitida*, *V. tuberosa* and *V. wolgensis* may be taken as ecotypes of the species *V. officinalis*, being both morphologically and chemical-taxonomically similar to the latter.

*Valeriana stolonifera* may be grown for its industrial use as pharmaceutic raw material since from its stolons a higher amount of rhizomes and roots may be obtained as compared to *V. officinalis*.