

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FARMACIE**



Păltinean Ramona

**Cercetări botanice, fitochimice și farmacologice
asupra unor specii de *Fumariaceae* din flora
spontană a României**

**Rezumatul tezei pentru obținerea titlului de
Doctor în Științe Medicale, domeniul Farmacie**

Conducător științific:

Prof. Dr. Mircea Tămaș

Cluj-Napoca - 2014

CUPRINS

INTRODUCERE	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	3
1. Date botanice privind genul <i>Fumaria</i>	5
1.1. Scurt istoric	5
1.2. Încadrarea sistematică	6
1.3. Descrierea botanică a familiei <i>Fumariaceae</i>	7
1.4. Caractere generale ale genului <i>Fumaria</i>	7
1.5. Speciile de <i>Fumaria</i> din flora Europei	8
1.6. Speciile de <i>Fumaria</i> din flora spontană a României	9
1.7. Criterii de diferențiere morfologică a speciilor indigene de <i>Fumaria</i>	9
1.8. Criterii de diferențiere histo-anatomică a speciilor de <i>Fumaria</i>	11
1.8.1. Caracterizarea micrografică a elementelor histologice prezente în pulberea speciei <i>Fumaria officinalis</i> L.	11
1.8.2. Caractere anatomice diferențiale ale speciilor genului <i>Fumaria</i>	12
2. Date fitochimice privind genul <i>Fumaria</i>	13
2.1. Produsul vegetal medicinal <i>Fumariae herba</i>	13
2.2. Alcaloizi	14
2.3. Flavonoide	19
2.4. Acizi polifenolcarboxilici și acizi organici	19
3. Date farmacologice privind genul <i>Fumaria</i>	21
3.1. Istoricul acțiunii farmacologice	21
3.2. Acțiuni și utilizări	21
3.3. Toxicitate	22
4. Produse fitoterapeutice cu specia <i>Fumaria officinalis</i> L.	23
5. Motivația alegerii temei	25
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	27
1. Ipoteza de lucru/obiective	29
2. Metodologie generală	29
2.1. Condiții generale	29
2.2. Materialul vegetal utilizat	30
3. Analiza morfologică comparativă a speciilor de <i>Fumaria</i>	33
3.1. Introducere	33
3.2. Ipoteza de lucru	33
3.3. Material și metodă	33
3.4. Rezultate	34
3.5. Discuții	36
3.6. Concluzii	38
4. Studiul microscopic al elementelor histologice din pulberea speciilor genului <i>Fumaria</i>	39

4.1. Introducere	39
4.2. Ipoteza de lucru	39
4.3. Material și metodă	39
4.4. Rezultate	39
4.5. Discuții	40
4.6. Concluzii	40
5. Analiza histo-anatomică a organelor vegetative pentru speciile genului	
<i>Fumaria</i>	41
5.1. Introducere	41
5.2. Ipoteza de lucru	41
5.3. Material și metodă	41
5.4. Rezultate	42
5.5. Discuții	44
5.6. Concluzii	46
6. Studiul calitativ comparativ al alcaloizilor pentru speciile genului <i>Fumaria</i> prin:	
TLC, Prep TLC, HPLC- DAD și HPLC/ MS-TOF	47
6.1. Introducere	47
6.2. Ipoteza de lucru	47
6.3. Material și metodă	47
6.4. Rezultate	51
6.5. Discuții	65
6.6. Concluzii	68
7. Determinarea cantitativă a alcaloizilor pentru speciile genului <i>Fumaria</i> prin	
HPLC-DAD și spectrofotometrie	69
7.1. Introducere	69
7.2. Ipoteza de lucru	69
7.3. Material și metodă	69
7.4. Rezultate	71
7.5. Discuții	75
7.6. Concluzii	76
8. Studiul calitativ comparativ a flavonoidelor și al acizilor polifenolcarboxilici	
pentru speciile genului <i>Fumaria</i> prin: TLC, Prep TLC și HPLC-DAD	77
8.1. Introducere.....	77
8.2. Ipoteza de lucru.....	77
8.3. Material și metodă.....	77
8.4. Rezultate.....	80
8.5. Discuții.....	88
8.6. Concluzii.....	90
9. Determinarea cantitativă a flavonoidelor și a acizilor polifenolcarboxilici pentru	
speciile genului <i>Fumaria</i> prin spectrofotometrie	91
9.1. Introducere	91

9.2. Ipoteza de lucru	91
9.3. Material și metodă	91
9.4. Rezultate	93
9.5. Discuții	95
9.6. Concluzii	96
10. Analiza acțiunii antispastice a speciilor de <i>Fumaria</i>	97
10.1. Introducere	97
10.2. Ipoteza de lucru	97
10.3. Material și metodă	97
10.4. Rezultate	98
10.5. Discuții	100
10.6. Concluzii	100
11. Analiza acțiunii diuretice, saluretice și uricozurice a speciilor de <i>Fumaria</i>.....	101
11.1. Introducere	101
11.2. Ipoteza de lucru	101
11.3. Material și metodă	101
11.4. Rezultate	102
11.5. Discuții	103
11.6. Concluzii	104
12. CONCLUZII GENERALE	105
13. ORIGINALITATEA SI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI	109
REFERINȚE	111

CUVINTE CHEIE: genul *Fumaria*; caractere morfologice și histo-anatomice diferențiale; alcaloizi izochinolinici; flavonoide și acizi polifenolcarboxilici; HPLC-DAD; acțiune antispastică, diuretică, saluretică și uricozurică.

INTRODUCERE

Obiectivul principal al cercetării a fost diferențierea speciilor genului *Fumaria*, prin identificarea caracterelor morfologice, caracterizarea histo-anatomică, fitochimică și farmacologică a speciilor. Totodată, s-a dorit și caracterizarea individuală a taxonilor din toate aceste puncte de vedere, pentru identificarea unor noi compuși, respectiv a unor noi activități farmacologice, dar și pentru identificarea unor noi caractere morfologice și histo-anatomice care să permită identificarea lor mai ușoară.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Genul *Fumaria* (Fam. *Fumariaceae*) cuprinde aproximativ 50 de specii și subspecii, care sunt răspândite cu precădere în Europa, partea de Vest a Asiei, America de Nord, Sudul Africii și Australia. În România, speciile genului *Fumaria* se întâlnesc în Nord-Vestul și Centrul Transilvaniei, Banat, Defileul Dunării și mai rar în Moldova. În flora spontană a României vegetează 7 specii, 2 subspecii și 1 hibrid:

- *Fumaria officinalis* L. cu subsp. *densiflora*;
 - *Fumaria rostellata* Knaf.;
 - *Fumaria vaillantii* Loisel. cu subsp. *laggeri*;
 - *Fumaria parviflora* Lam.;
 - *Fumaria schleicheri* Soyer-Willemet.;
 - *Fumaria thuretii* Boiss.;
 - *Fumaria kralikii* Jord.;
- * *Fumaria jankae* = *Fumaria rostellata* x *Fumaria schleicheri*.

Literatura de specialitate oferă date botanice legate de caracterizarea morfologică și histo-anatomică a acestor specii. Diferențele morfologice dintre speciile genului *Fumaria* sunt foarte mici, fapt care atrage după sine un risc de substituție mare. Deosebiri se evidențiază la nivelul florilor, al pedicelului fructifer, al sepalului și al bracteolelor. O caracterizare micrografică și histo-anatomică sumară se regăsește în monografia speciei *Fumaria officinalis* L. din Farmacopeea Europeană, ediția a VII-a.

Produsul vegetal medicinal este constituit din partea aeriană înflorită a speciei *Fumaria officinalis* L. și poartă numele de *Fumariae herba*.

Din punct de vedere al compoziției chimice, speciile genului *Fumaria* se remarcă prin conținutul de alcaloizi izochinolinici, dintre care principalul alcaloid este protopina. Alături de aceștia, literatura de specialitate semnalează și prezența acizilor polifenolcarboxilici, a acizilor organici, dar și a flavonoidelor.

Speciile genului *Fumaria* (Fam. *Fumariaceae*) sunt cunoscute din cele mai vechi timpuri și utilizate de medicina tradițională pentru tratamentul diverselor afecțiuni, în special de natură hepatobiliară, gastro-intestinală și genito-urinară.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. Ipoteza de lucru

Contribuțiile personale sunt orientate pe 4 direcții experimentale : primele două se referă la caracterizarea morfologică, histologică și histo-anatomică a speciilor luate în lucru, cea de-a treia cuprinde studiul fitochimic calitativ și cantitativ al principalelor clase de principii active iar ultima realizează corelarea studiului fitochimic cu efectele farmacologice ale principiilor active analizate din speciile studiate.

Pentru realizarea studiilor, s-a utilizat ca și referință monografia speciei *Fumaria officinalis* L. descrisă de Farmacopeea Europeană Ediția a VII-a.

2. Metodologie generală

Materialul vegetal utilizat

Cercetările au fost realizate pe 20 probe aparținând la 7 taxoni ai genului *Fumaria*. După identificarea speciilor, o parte din materialul vegetal uscat a fost păstrat pentru analizele fitochimice și farmacologice, iar o altă parte a fost conservat în alcool etilic 70%. Materialul vegetal analizat a fost reprezentat de părțile aeriene ce aparțin la 7 specii ale genului *Fumaria*, cu excepția cercetărilor histo-anatomice și fitochimice, unde s-au realizat cercetări și asupra rădăcinilor, chiar dacă produsul vegetal medicinal este reprezentat de partea aeriană (*Fumariae herba*).

Din flora spontană a României au fost recoltate cinci specii din zona Transilvaniei: *Fumaria rostellata* Knaff., *Fumaria parviflora* Lam., *Fumaria vaillantii* Loisel., *Fumaria schleicheri* Soy.Will., *Fumaria jankae* Hausskn. O specie a fost recoltată din flora spontană a Belgiei și a Luxembourgului: *Fumaria officinalis* L., iar specia *Fumaria capreolata* L. a fost recoltată din flora spontană a Franței.

În vederea stabilirii unor eventuale diferențe în funcție de anul și locul recoltării s-au folosit mai multe probe ale aceleiași specii - *F. schleicheri* Soy. Will. Tot pentru această specie s-au realizat studii fitochimice separate asupra rădăcinilor, tulpinilor, frunzelor și fructelor pentru identificarea diferențelor la nivelul diferitelor organe vegetative.

Pentru stabilirea autenticității speciei *F. officinalis* L. s-a folosit și specia oficială provenită din ierbarul Centrului Interdisciplinar în Analiza Medicamentului (CIRM) al Universității din Liège, Belgia, iar tot pentru acest taxon s-au mai folosit două eșantioane de ceai provenite fie din Laboratorul de Farmacognozie din Liège, Belgia, fie dintr-un magazin naturist, Liège, Belgia.

Screeningul fitochimic al principiilor active

Materialul vegetal a fost supus mai multor procedee de extracție astfel:

1. Extracție hidroalcoolică la ultrasunete prin agitație magnetică (pentru flavonoide, acizi polifenolcarboxilici și alcaloizi);
2. Macerare în etanol 70% timp de 72h, urmată de percolare (pentru flavonoide, acizi polifenolcarboxilici și alcaloizi);
3. Extracție în mediu alcalin (pentru alcaloizi)

Analizele preliminare pentru identificarea principiilor active au fost realizate prin cromatografie pe strat subțire analitică și preparativă, iar identificarea alcaloizilor și a acizilor polifenolcarboxilici s-a realizat prin metode moderne HPLC-DAD, și respectiv MS-TOF. Determinările cantitative ale alcaloizilor și acizilor polifenolcarboxilici s-au realizat prin spectrofotometrie iar pentru alcaloizi, și prin HPLC-DAD.

3. Analiza morfologică comparativă a speciilor de *Fumaria*

Diferențierea morfologică și micromorfologică a fost realizată prin examinarea atentă a florilor și fructelor cu ajutorul stereomicroscopului. S-au realizat măsurători la nivelul pedunculului floral, pedicelului fructifer, bracteolelor, sepalelor, petalelor și fructelor.

Studiile morfologice realizate asupra florilor și fructelor pentru cele 7 specii de *Fumaria* au demonstrat prezența caracterelor morfologice specifice. Totodată, prin acest studiu s-au identificat și asemănările morfologice, ceea ce evidențiază legăturile filogenetice existente între speciile genului *Fumaria*. Chiar dacă fiecare specie prezintă caractere morfologice diferențiale, pentru o identificare precisă trebuie luate în considerare toate aspectele morfologice pentru evitarea eventualelor substituiri a speciei oficinale.

Pentru specia *Fumaria jankae* există puține date morfologice, acest studiu conferind tezei de doctorat un caracter de noutate.

Astfel, prezența sau absența sepalelor, lungimea sepalelor, forma fructului și lungimea pedicelului fructifer precum și lungimea bracteolei pedicelului fructifer reprezintă caractere morfologice specifice fiecărui taxon.

4. Studiul microscopic al elementelor histologice din pulberea speciilor genului *Fumaria*

Pentru identificarea eventualelor diferențe a produselor vegetale aparținând speciilor genului *Fumaria*, s-a realizat caracterizarea microscopică a pulberilor obținute din partea aeriană a acestora. Caracterizarea pulberilor s-a realizat prin comparare cu datele existente pentru specia oficială, *Fumaria officinalis* L. Studiul acestor elemente s-a realizat prin examinarea microscopică a preparatelor obținute din pulberea speciilor de *Fumaria* utilizând ca mediu de includere cloralhidratul 80%.

În urma analizei microscopice a pulberilor pentru cele 7 specii studiate, s-au obținut date caracteristice în vederea identificării și autentificării speciilor din genul *Fumaria* față de alte genuri. Însă nu au fost identificate elemente histologice specifice speciilor din genul *Fumaria*, pentru evitarea eventualelor substituiri.

5. Analiza histo-anatomică a organelor vegetative pentru speciile genului *Fumaria*

În vederea identificării posibilelor diferențe, s-a realizat caracterizarea histo-anatomică a organelor vegetative a următoarelor specii ale genului *Fumaria*: *Fumaria schleicheri* Soy.Will., *Fumaria vaillantii* Loisel., *Fumaria parviflora* Lam., *Fumaria rostellata* Knaff., *Fumaria jankae* Hausskn. Caracterizarea histo-anatomică s-a realizat asupra rădăcinilor, tulpinilor și frunzelor dar s-a focalizat asupra tulpinilor deoarece pentru celelalte organe vegetative nu s-au identificat diferențe.

Descrierea histo-anatomică a rădăcinilor, tulpinilor și frunzelor a fost realizată prin obținerea de preparate microscopice prin tehnica histologică de includere în parafină.

Studiul histo-anatomic al celor 5 taxoni aparținând genului *Fumaria* demonstrează prezența de structuri diferențiale la nivelul tulpinii, neobservându-se diferențe la nivelul rădăcinii și al frunzelor. Diferențele histo-anatomice care se evidențiază la nivelul tulpinilor pot fi considerate criterii de specificitate. Astfel speciile se pot diferenția după mărimea muchiilor și după numărul și dispoziția fasciculelor conducătoare.

Prin realizarea de secțiuni transversale la nivelul tulpinilor, speciile pot fi diferențiate iar riscul de substituire scade. Aceste studii pot fi folosite pentru o identificare ulterioară mai ușoară a speciilor, iar structurile histo-anatomice realizate pot fi utilizate ca etaloane pentru viitoarele cercetări. Cercetările de față s-au realizat pentru prima dată la noi în țară iar pentru specia *Fumaria jankae* Hausskn. acest studiu a fost realizat pentru prima dată.

6. Studiul calitativ comparativ al alcaloizilor pentru speciile genului *Fumaria* prin: TLC, Prep TLC, HPLC- DAD și HPLC/ MS-TOF

Cercetarea fitochimică a genului *Fumaria* a avut ca obiectiv principal studiul alcaloizilor de tip izochinolinic. Cercetările au fost realizate fie pe specii diferite, pe aceleași specii dar recoltate sau deținute din zone diferite, sau au fost utilizate diferite organe vegetative sau de reproducere ale aceleași specii. Screeningul fitochimic al extractelor a fost realizat prin metode clasice de tip TLC, urmat de metode moderne, precum HPLC-DAD și respectiv MS-TOF. Diversitatea și complexitatea structurală a alcaloizilor existenți a determinat și îndreptarea studiului către încercarea izolării compușilor prin Prep TLC.

Analiza HPLC-DAD asupra speciilor genului *Fumaria* a demonstrat complexitatea acestor specii din punctul de vedere al prezenței alcaloizilor. Au fost identificați alcaloizi terțiari, de tipul protopinei, bicuculinei și cuaternari de tipul chelidoninei și al sanguinarinei. Protopina este alcaloidul întâlnit în toate speciile studiate dar este majoritar doar în specia *Fumaria officinalis*. Prezența chelidoninei în specia oficială sublinează relația chemotaxonomică existentă între speciile ordinului *Papaverales* de unde și posibilitatea de încadrare sistematică inițială, a speciilor genului *Fumaria*, în familia *Papaveraceae*. Fiecare specie prezintă măcar un alcaloid caracteristic ce nu se regăsește în celelalte specii. Avem ipoteze susținute prin analiza MS-TOF, în ceea ce privește prezența N-metilhidrasteinei, în specia *Fumaria schleicheri* și a fumaroficinei respectiv a O-metilfumaroficinei în specia oficială.

7. Determinarea cantitativă a alcaloizilor pentru speciile genului *Fumaria* prin HPLC-DAD și spectrofotometrie

Chiar dacă se utilizează partea aeriană, studiile au arătat prezența alcaloizilor și la nivelul rădăcinilor. Comparând tulpinile, frunzele și florile cu fructe, pentru aceeași specie, *Fumaria schleicheri*, s-a constatat că fructele împreună cu florile sunt cele mai bogate în alcaloizi.

În ceea ce privește analiza cantitativă prin HPLC-DAD, s-a concluzionat că specia cea mai bogată în alcaloizi izochinolinici este *Fumaria schleicheri* și nu specia oficială. În această specie s-a dozat cea mai mare cantitate de protopină, stilopină și respectiv sanguinarnă. Specia *Fumaria parviflora* conține cea mai mare cantitate de stilopină iar hidrastina este cuantificată doar în specia *Fumaria jankae*. Doar în specia *Fumaria officinalis* a fost dozată chelidonina. În ceea ce privește studiul comparativ al organelor vegetative și de reproducere pentru specia *Fumaria schleicheri* putem preciza că florile și fructele sunt cele mai bogate în alcaloizi și conțin cea mai mare cantitate de protopină, stilopină și sanguinarnă, dintre toate probele studiate.

În urma analizei cantitative, pentru totalul alcaloidic, s-au observat mici diferențe între cele două specii, *Fumaria schleicheri* și *Fumaria officinalis*, și între probele aceleiași specii. Farmacopeea Europeană ediția a 7-a, la monografia speciei *Fumaria officinalis* prevede un procent de minim 0,40% de alcaloizi totali exprimați în protopină. Valorile obținute de noi pentru alcaloizii care prezintă grupări metilendioxi sunt de minim 0,52% de alcaloizi exprimați în chelidonină.

Încă nu s-au găsit date în literatură despre dozarea comparativă a alcaloizilor izochinolinici în organele vegetative și de reproducere ale speciilor de *Fumaria*, și despre dozarea spectrofotometrică, utilizând metoda descrisă de Ph. Eur. ed. a-VII-a, la monografia speciei *Chelidonium majus*. Aceste cercetări conferă studiului originalitate.

8. Studiul calitativ comparativ a flavonoidelor și al acizilor polifenolcarboxilici pentru speciile genului *Fumaria* prin: TLC, Prep TLC și HPLC-DAD

Cercetarea fitochimică a genului *Fumaria* a vizat și studiul comparativ al flavonoidelor și al acizilor polifenolcarboxilici, care s-a realizat pentru extractele speciilor *Fumaria officinalis* și *Fumaria schleicheri* cu scopul de a caracteriza cele două specii din acest punct de vedere, dar și pentru identificarea eventualelor diferențe. În acest sens s-au realizat analize preliminare prin cromatografie pe strat subțire, utilizând metodele prevăzute de Ph. Eur. ed. a-VII-a. S-a încercat izolarea compușilor prin Prep TLC utilizând aceeași metodă. Compușii rezultați au fost identificați prin HPLC-DAD iar o fracțiune din extractul speciei *Fumaria schleicheri* a fost analizată prin HPLC/MS-TOF.

În urma analizei preliminare prin CSS s-a identificat prezența acizilor polifenolicarboxilici, respectiv a acidului clorogenic și a compușilor apropiați izocvercitrinei. Dacă se compară cele 3 extracte pentru speciile *F. schleicheri*, *F. officinalis* și *F. vaillantii*, se poate concluziona că extractul speciei *F. vaillantii* conține cei mai mulți compuși de tipul acizilor polifenolcarboxilici și a flavonoidelor.

În urma analizei comparative a extractelor speciile *Fumaria officinalis* și *Fumaria schleicherii* prin Prep TLC și HPLC-DAD au fost identificați compușii: acid izoclorogenic, cvercitrina, hiperozida, izovitexina și rutozida în ambele specii. În specia oficială s-a identificat în plus și acidul izoclorogenic, acidul ferulic și cinarina. În specia *Fumaria schleicheri* a fost identificat compusul camferol 3-o rutinozida.

Studiul flavonoidelor și al acizilor polifenolcarboxilici pentru speciile de *Fumaria* a fost realizat pentru prima dată pentru speciile recoltate din flora spontană a României, iar identificarea compușilor camferol 3-o rutozida pentru specia *Fumaria schleicheri* și a esterului maleic al acidului cafeic pentru speciile *Fumaria officinalis* și *Fumaria schleicheri* conferă studiului noutate.

9. Determinarea cantitativă a flavonoidelor și a acizilor polifenolcarboxilici pentru speciile genului *Fumaria* prin spectrofotometrie

După caracterizarea calitativă a flavonoidelor și a acizilor polifenolcarboxilici pentru extractele speciilor *Fumaria schleicheri* și *Fumaria officinalis*, ne-am propus realizarea unei analize cantitative comparative a acestor compuși pentru speciile de *Fumaria*. A fost realizată o dozare cantitativă a compușilor polifenolcarboxilici, utilizând metoda descrisă de Ph. Eur. ed. a-VII-a, dar exprimarea

compușilor s-a realizat în acid cafeic și nu în acid clorogenic cum specifică monografia. Dozarea s-a realizat pentru 5 extracte aparținând speciilor: *Fumaria vaillantii*, *Fumaria schleicheri*, *Fumaria officinalis*, *Fumaria rostellata*, *Fumaria jankae*. Dozarea flavonoidelor s-a realizat prin metoda specificată de Farmacopea Romană ediția X, exprimarea compușilor fiind realizată în rutozidă.

Prin studiul comparativ a celor 5 extracte provenite din speciile genului *Fumaria* putem concluziona că specia *Fumaria vaillantii* este cea mai bogată în flavonoide și în acizi polifenolcarboxilici. Această specie prezintă un conținut mediu de flavonoide totale, comparativ cu cel din alte specii de plante prezentând o valoare medie de 6,260 %.

Specia *Fumaria officinalis* prezintă un conținut mediu de flavonoide totale însă un conținut mare de acizi polifenolcarboxilici față de specia *Fumaria schleicheri*, ceea ce explică prezența unui număr mai mare de acizi polifenolcarboxilici identificați prin metodele HPLC-DAD și MS-TOF. Specia *Fumaria schleicheri* conține o cantitate mai mare de flavonoide și un conținut mediu de acizi polifenolcarboxilici.

Cele mai mici cantități de acizi polifenolcarboxilici și de flavonoide s-au identificat în specia *Fumaria jankae*. Deoarece pentru această specie nu au mai fost realizate cercetări de acest tip, studiul de față conferă cercetării caracter inovator.

10. Analiza acțiunii antispastice a speciilor de *Fumaria*

În ceea ce privește acțiunea terapeutică a extractelor vegetale, s-a determinat acțiunea antispastică și acțiunea diuretică, saluretică și uricozurică pentru două specii aparținând genului *Fumaria*.

S-a testat potențialul antispastic al unor soluții hidroalcoolice (stilopina, *Fumaria schleicheri*, *Fumaria officinalis*) utilizând modelul experimental al ileonului izolat de cobai. Rezultatele obținute au pus în evidență un efect antispastic moderat în special la soluția hidroalcoolică de stilopină, care a inhibat cu 40.17% contracțiile provocate de agonistul Ach, urmată de soluția hidroalcoolică aparținând speciei *Fumaria officinalis* cu un procent de inhibiție de 31.20%, și de soluția hidroalcoolică a speciei *Fumaria schleicheri* cu un procent de inhibiție de 27.44%.

11. Analiza acțiunii diuretice, saluretice și uricozurice a speciilor de *Fumaria*

S-a testat acțiunea diuretică, saluretică și uricozurică a extractelor uscate din *Fumaria officinalis*, respectiv *Fumaria schleicheri*, administrate în doza de 250 mg/kg la șobolani Wistar masculi, cu greutatea medie de 200g. Rezultatele au demonstrat un efect diuretic intens, semnificativ statistic și asemănător furosemidului la ambele extracte uscate din *Fumaria officinalis*, respectiv *Fumaria schleicheri*, indicii diuretici fiind 2,24, respectiv 1,97.

Salureza ionului de sodiu a fost crescută în cazul ambelor extracte uscate, indicele saluretic al Na⁺ fiind 1,91 în cazul extractului uscat din *Fumaria officinalis* și 2,13 în cazul extractului uscat din *Fumaria schleicheri*. Salureza ionului de potasiu a fost superioară chiar față de lotul control, tratat cu furosemid, indicele saluretic al K⁺ fiind 2,42 în cazul extractului uscat din *Fumaria officinalis* și 2,53 în cazul extractului uscat din *Fumaria schleicheri*. În ceea ce privește eliminarea acidului uric, doar lotul tratat cu extractul uscat din *Fumaria officinalis* a prezentat efecte uricozurice semnificative statistic.

Aceste studii au fost realizate pentru prima dată pentru speciile *Fumaria schleicheri* și *Fumaria officinalis*, conferind astfel studiului originalitate și noutate.

CONCLUZII GENERALE

Complexitatea morfologică și fitochimică a speciilor genului *Fumaria* fac ca acestea să reprezinte un domeniu vast de cercetare, de la nivelul morfologic, anatomic, fitochimic, farmacologic până la nivel filogenetic.

Cercetarea experimentală a dus la identificarea principalelor modalități de evitare a substituirilor speciei oficinale cu alte specii aparținând genului. Totodată, studiile întreprinse au dus la demonstrarea existenței principiilor active și în conținutul altor specii în afară de specia oficială. În ceea ce privește activitatea farmacologică, s-a putut realiza o corelație între conținutul în principii active al speciilor luate în lucru și activitatea antispastică și cea diuretică, saluretică și uricozurică.

Cercetările cuprinse în această teză de doctorat aduc contribuții noi în ceea ce privește caracterizarea botanică, farmacognostică și farmacologică a speciilor genului *Fumaria* (*Fumariaceae*).

**„IULIU HAȚIEGANU”
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY CLUJ-NAPOCA
FACULTY OF PHARMACY**



Păltinean Ramona

**Botanical, phytochemical and pharmacological
researches on some *Fumariaceae* species of the
spontaneous flora of Romania**

**Thesis Summary for obtaining the title of
Doctor in Medical Sciences, Pharmacy domain**

Scientific coordinator:

Prof. dr. Mircea Tămaș

Cluj-Napoca - 2014

SUMMARY

INTRODUCTION	1
CURRENT STATE OF THE ART	3
1. Botanical data on <i>Fumaria</i> genus	5
1.1. History	5
1.2. Systematic classification	6
1.3. Botanică description of the <i>Fumariaceae</i> family	7
1.4. General characters of the <i>Fumaria</i> genus	7
1.5. <i>Fumaria</i> species from the European flora	8
1.6. <i>Fumaria</i> species from the spontaneous flora of Romania	9
1.7. Morphological differentiation criteria of the indigenous <i>Fumaria</i> species	9
1.8. Histo-anatomical differentiation criteria of the <i>Fumaria</i> species	11
1.8.1. Micrographic characterization of the histological characters of the powder obtained from <i>Fumaria officinalis</i> L. species	11
1.8.2. Differential anatomical characters of the species belonging to <i>Fumaria</i> genus	12
2. Phytochemical data on <i>Fumaria</i> genus	13
2.1 Vegetal medicinal product <i>Fumariae herba</i>	13
2.2. Alkaloids	14
2.3. Flavonoids	19
2.4. Polyphenolcarboxylic acids and organic acids	19
3. Pharmacological data on <i>Fumaria</i> genus	21
3.1. History of the pharmacological activity	21
3.2. Actions and uses	21
3.3. Toxicity	22
4. Phytoterapeutical products containing <i>Fumaria officinalis</i> L.	23
5. Reasons for choosing the research topic	25
PERSONAL CONTRIBUTION	27
1. Hypothesis/aims	29
2. General methodology	29
2.1. General conditions	29
2.2. Vegetal materialul used	30
3. Comparative morphological analysis on <i>Fumaria</i> species	33
3.1. Introduction	33
3.2. Hypothesis	33
3.3. Material and methods	33
3.4. Results	34
3.5. Discussion	36
3.6. Conclusions	38
4. Microscopical study of the histological elements of the powder obtained from the species of the <i>Fumaria</i> genus	39

4.1. Introduction	39
4.2. Hypothesis	39
4.3. Material and methods	39
4.4. Results	39
4.5. Discussion	40
4.6. Conclusions	40
5. Histo-anatomical analysis of the vegetative organs for the species belonging to	
<i>Fumaria</i> genus	41
5.1. Introduction	41
5.2. Hypothesis	41
5.3. Material and methods	41
5.4. Results	42
5.5. Discussion	44
5.6. Conclusions	46
6. Comparative qualitative study of the alkaloids for the species belonging to	
<i>Fumaria</i> genus by: TLC, Prep TLC, HPLC- DAD and HPLC/ MS-TOF	47
6.1. Introduction	47
6.2. Hypothesis	47
6.3. Material and methods	47
6.4. Results	51
6.5. Discussion	65
6.6. Conclusions	68
7. Quantitative determination of the alkaloids for the species belonging to <i>Fumaria</i>	
genus by HPLC-DAD and spectrophotometry	69
7.1. Introduction	69
7.2. Hypothesis	69
7.3. Material and methods	69
7.4. Results	71
7.5. Discussion	75
7.6. Conclusions	76
8. Comparative qualitative study of the flavonoids and polyphenolcarboxylic acids	
for the species belonging to <i>Fumaria</i> genus by: TLC, Prep TLC and HPLC-DAD	77
8.1. Introduction	77
8.2. Hypothesis	77
8.3. Material and methods	77
8.4. Results	80
8.5. Discussion	88
8.6. Conclusions	90
9. Quantitative determination of the flavonoids and of the polyphenolcarboxylic	
acids for the species of the <i>Fumaria</i> genus by spectrophotometry	91
9.1. Introduction	91

9.2. Hypothesis	91
9.3. Material and methods	91
9.4. Results	93
9.5. Discussion	95
9.6. Conclusions	96
10. Analysis of the antispasmodic activity of the <i>Fumaria</i> species	97
10.1. Introduction	97
10.2. Hypothesis	97
10.3. Material and methods	97
10.4. Results	98
10.5. Discussion	100
10.6. Conclusions	100
11. Analysis of the diuretic, saluretic and uricosuric activity of <i>Fumaria</i> species.....	101
11.1. Introduction	101
11.2. Hypothesis	101
11.3. Material and methods	101
11.4. Results	102
11.5. Discussion	103
11.6. Conclusions	104
12. GENERAL CONCLUSIONS	105
13. ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS	109
REFERENCES	111

KEYWORDS: *Fumaria* genus; morfological and histo-anatomical differential characters; isochinolinic alkaloids; flavonoids and poliphenolcarboxylic acids; HPLC-DAD; antispasmodic, diuretic, saluretic and uricosuric activity.

Main parts of the thesis

INTRODUCTION

The main objective of the research was the differentiation of the species belonging to *Fumaria* genus, by the identification of the morphological characters, histo-anatomical, phytochemical and pharmacological characterization of the species. At the same time, the aim of the research was the characterization of individual taxa from all these points of view, for the identification of new compounds, namely new pharmacological activities, but also for the identification of new morphological and histo-anatomical characters, in order to facilitate their identification.

CURRENT STATE OF THE ART

Fumaria genus (*Fumariaceae* family) comprises about 50 species and subspecies, which can be found mainly in West Asia, North America, South Africa and Australia. In Romania, species belonging to *Fumaria* genus can be found in North-west and Central Transylvania, Banat, Danube Gorge and rarely in Moldova. In the spontaneous flora of Romania, the following 7 species, 2 subspecies and 1 hybrid vegetate:

- *Fumaria officinalis* L. cu subsp. *densiflora*;
 - *Fumaria rostellata* Knaf.;
 - *Fumaria vaillantii* Loisel. cu subsp. *laggeri*;
 - *Fumaria parviflora* Lam.;
 - *Fumaria schleicheri* Soyer-Willemet.;
 - *Fumaria thuretii* Boiss.;
 - *Fumaria kralikii* Jord.;
- * *Fumaria jankae* = *Fumaria rostellata* x *Fumaria schleicheri*.

Specialized literature provides botanical data related to morphological and histo-anatomical characterization of these species. Morphological differences between the species of *Fumaria* species are few, which entails a higher risk of substitution. Differences stand out in the flowers, the fruit pedicel, the sepals and bracteols. A summary micrographic and histo-anatomical characterization is found in the monography of the species *Fumaria officinalis* L., from the European Pharmacopoeia, VIIth edition.

Vegetal medicinal product consists of flowering aerial part of the species *Fumaria officinalis* L. and it is called *Fumariae herba*.

Regarding their chemical composition, species of the *Fumaria* genus are characterized by the content of isoquinolinic alkaloids, of which the principal is protopine. Besides these, the literature indicates the presence of polyphenolcarboxylic acids, organic acids, but also of the flavonoids.

Species of *Fumaria* genus (*Fumariaceae* Fam.) are known from ancient times and used by traditional medicine in order to treat various diseases, especially hepato-biliary, gastrointestinal and genitourinary ones.

PERSONAL CONTRIBUTIONS

12. Hypothesis

Personal contributions are oriented on 4 experimental directions : the first two refer to the morphological, histological and histo-anatomical characterization of the studied species, the third comprises the phytochemical qualitative and quantitative study of the main classes of active principles and the last one performs the correlation between the phytochemical study with the pharmacological effects of the analyzed active principles from the studied species.

In order to achieve the results, the reference used was the monography of the species *Fumaria officinalis* L., described by the European Pharmacopoeia, VIIth edition.

13. General Methodology

Vegetal materialul

The researches were performed on 20 samples, belonging to 7 taxa of the *Fumaria* genus. After the identification of the species, part of the dried vegetal material was preserved for phytochemical and pharmacological analysis and another part was preserved in 70% ethylic alcohol. Analyzed vegetal material consisted in the aerial parts of 7 species of the *Fumaria* genus, excepting histo-anatomical and phytochemical researches, which were performed also on roots, even though the vegetal medicinal product consists in the aerial part (*Fumariae herba*).

From the Romanian spontaneous flora, five species were harvested from the Transilvanian area: *Fumaria rostellata* Knaff., *Fumaria parviflora* Lam., *Fumaria vaillantii* Loisel., *Fumaria schleicheri* Soy.Will.,

Fumaria jankae Hausskn. One species was harvested from the spontaneous flora of Belgium and Luxembourg; *Fumaria officinalis* L. and the species *Fumaria capreolata* L. was harvested from the spontaneous flora of France.

In order to establish any possible differences, depending on the year and place of harvesting, more samples of the same species were used - *F. schleicheri* Soy. Will. For this species, phytochemical separate studies on roots, stems, leaves and fruits were performed in order to identify the differences on the vegetative organs.

In order to establish the authenticity of the species *F. officinalis* L., the officinal species from the herbarium of the Interdisciplinary Center of Drug Analysis (ICDA) of the Liège University, Belgium, was also used and for this same taxa, two more tea samples belonging to the Pharmacognosy Laboratory in Liège, Belgium, or to a herbal shop in Liège, Belgium.

Phytochemical screening of active principles

Vegetal material was subjected to several extraction procedures:

4. Hydroalcoholic extraction, ultrasound assisted, by magnetic stirring (for the flavonoids, polyphenolcarboxylic acids and alkaloids);
5. 70% ethanol maceration, for 72h, followed by percolation (for the flavonoids, polyphenolcarboxylic acids and alkaloids);
6. Extraction in an alkaline medium (for the alkaloids).

Preliminary analysis in order to identify active principles were performed by analytical and preparative thin layer chromatography and identification for the alkaloids and polyphenolcarboxylic acids was performed by HPLC-DAD and MS-TOF modern methods. Quantitative determination of alkaloids and polyphenolcarboxylic acids were performed by spectrophotometry and for the alkaloids, also by HPLC-DAD.

14. Comparative morphological analysis of the *Fumaria* species

Morphological and micromorphological differentiation was performed by an attentive examination of the flowers and fruits, with a stereomicroscope. Measurements on the floral peduncle, fruit pedicel, bracteoles, sepals, petals and fruits were performed.

Morphological studies on the flowers and fruits for the 7 *Fumaria* species showed the presence of specific morphological characters. At the same time, this study allowed the identification of morphological similarities, which highlights the phylogenetic links existing between the species of *Fumaria* genus.

Even though each species presents differential morphological characters, for a precise identification all morphological aspects must be taken into consideration in order to avoid possible substitution of the officinal species.

For the species *Fumaria jankae*, few morphological data exist, this study bringing originality and novelty to the thesis.

Thus, the presence and absence of sepals, length of sepals, form of the fruit and length of the fruit pedicel and length of the bracteole of the fruit pedicel represent morphological specific characters for each taxa.

15. Microscopic study of the histological elements from the powder of the species belonging to *Fumaria* species

In order to identify possible differences of the vegetal products belonging to the species of the *Fumaria* genus, microscopic characterization of the powder obtained from the aerial parts of the species was performed. The characterization of the powder was performed by comparing with the existing data on the officinal species, *Fumaria officinalis* L. the study of these elements was performed by microscopic examination of the specimens obtained from the powder of the *Fumaria* species, using 80% chloralhydrate as an including medium.

Following the microscopic analysis of the powder, for the 7 studied species, characteristic data were obtained, in order to identify and certify the identity of the species of *Fumaria* genus from other genera. No specific histological elements, specific for the *Fumaria* genus were identified, in order to avoid possible substitutions.

16. Histo-anatomical analysis of the vegetative organs for the species of *Fumaria* genus

In order to identify the possible differences, histo-anatomical characterization of vegetative organs was performed on the following species of the *Fumaria* genus: *Fumaria schleicheri* Soy.Will., *Fumaria vaillantii* Loisel., *Fumaria parviflora* Lam., *Fumaria rostellata* Knaff., *Fumaria jankae* Hausskn. Histo-anatomical characterization was performed on roots, stems and leaves but was focused on stems, because for the other vegetative organs no differences were identified.

Histo-anatomical description of roots, stems and leaves was performed by the study of specimens achieved by the histological technique of including into paraffin.

Histo-anatomical study of the 5 taxa belonging to *Fumaria* genus proves the presence of differential structures in the stems. No differences were observed for the roots and leaves. Histo-anatomical differences on the stems can be considered specificity criteria. So, the species can be differentiated by the size of the edges and by the number and disposition of the vascular bundles.

By achieving transversal sections for the stems, the species can be differentiated and the risk of substitution decreases. These studies can be used for a subsequent easier identification of the species and achieved histo-anatomical structures can be used as standards for future researches. The present researches were achieved for the first time in our country and for the species *Fumaria jankae* Hausskn., this study was made for the first time.

17. Qualitative comparative study of the alkaloids for the species of the *Fumaria* genus by: TLC, Prep TLC, HPLC- DAD and HPLC/ MS-TOF

Phytochemical research of the *Fumaria* genus had as a main purpose the study of the isoquinolinic alkaloids. Researches were performed either on different species, either on the same species but harvested on different areas, either different vegetative and reproductive organs of the same species was used. Phytochemical screening was performed on extracts by classical methods, as TLC, followed by modern methods as HPLC-DAD and MS-TOF. The structural diversity and complexity of the existing alkaloids led to the orientation of the study towards the try of isolating compounds by Prep TLC.

HPLC-DAD analysis on the species of the *Fumaria* genus demonstrated the complexity of these species regarding the presence of alkaloids. Tertiary alkaloids, as protopine and bicuculine and quaternary alkaloids as chelidonine and sanguinarine were identified. Protopine is the alkaloid found in all studied species, but it is majoritarily found in the species *Fumaria officinalis*. The presence of chelidonine in the officinal species highlights the chemotaxonomic relationship between the species of the *Papaverales* order, which initially brought the systematic classification for the species of the *Fumaria* genus in the *Papaveraceae* family. Each species presents at least one characteristic alkaloid, which cannot be found in the other species. Hypothesis for the presence of N-methylhydrastine in the species *Fumaria schleicheri* and for the presence of fumaroficin and O-methylfumaroficin and fumaroficin in the officinal species exist and are sustained by the MS-TOF analysis.

18. Quantitative determination of the alkaloids for the species of the *Fumaria* genus by HPLC-DAD and spectrophotometry

Even if the aerial part is the one that is used, the studies have shown the presence of the alkaloids also in the roots. Comparing the stems, leaves and the flowers with fruits, for the same species, *Fumaria schleicheri*, it was noticed that the fruits with flowers are the richest in alkaloids.

Regarding the quantitative HPLC-DAD analysis, it was concluded that the species that is the richest in isoquinolinic alkaloids is *Fumaria schleicheri*, not the officinal species. In this species, the highest quantity of protopine, stilopine and sanguinarine was found. The species *Fumaria parviflora* contains the highest quantity of stilopine and hydrastine is quantified only in the species *Fumaria jankae*. Chelidonine

was found only in the species *Fumaria officinalis*. Regarding the comparative study of the vegetative and reproductory organs for the species *Fumaria schleicheri*, it was found that the flowers and fruits contain the highest quantity of protopine, stilopine and sanguinarine, from all the studied species.

Following the quantitative analysis for the alkaloidic total, small differences between the two species, *Fumaria schleicheri* and *Fumaria officinalis*, were found, even in the samples of the same species. European Pharmacopoeia, VIIth edition, in the monography of the species *Fumaria officinalis*, a minimum percent of 0,40% is stated for the alkaloidic total, expressed in protopine. The values obtained in this study for the alkaloids presenting methylenedioxy groups are of minimum 0,52% alkaloids expressed in chelidonine.

No data was yet found in the scientific literature about the comparative analysis of the isoquinolinic alkaloids from the vegetative and reproductory organs of the *Fumaria* species and about the spectrophotometric analysis, using the method described by the European Pharmacopoeia, VIIth edition, in the monography of the species *Chelidonium majus*. These researches confer originality to our study.

19. Qualitative comparative study of the flavonoids and polyphenolcarboxylic acids for the species of the *Fumaria* genus by: TLC, Prep TLC și HPLC-DAD

Phytochemical research on the *Fumaria* genus was oriented also on the comparative study of the flavonoids and of the polyphenolcarboxylic acids, which was performed for the extracts of the species *Fumaria officinalis* and *Fumaria schleicheri* with the purpose of characterizing these two species from this point of view, but also for identifying possible differences. In this context, preliminary analysis by thin layer chromatography, using methods from the European Pharmacopoeia, VIIth edition were performed. Isolation of the compounds by Prep TLC, using the same method, was also performed. The resulted compounds were HPLC-DAD identified and one fraction resulted from the preparative chromatography, obtained from the extract of *Fumaria schleicheri* was HPLC/MS-TOF analysed.

Following the preliminary analysis by TLC, polyphenolcarboxylic acids, as chlorogenic acid and isoquercitrin-related compounds, were found. If the three extracts for the species *F. schleicheri*, *F. officinalis* and *F. Vaillantii* are compared, it can be concluded that the extract obtained from the species *F. vaillantii* contains the largest number of flavonoids and polyphenolcarboxylic acids.

The comparative analysis of the extracts for the species *Fumaria officinalis* and *Fumaria schleicherii* by Prep TLC and HPLC-DAD allowed the identification of the following compounds: isochlorogenic acid, cvercitrin, hyperosid, isovitexin and rutoside in both species. In the officinal species, isochlorogenic acid, ferulic acid and cinarin were identified supplementary. In the species *Fumaria schleicheri*, kaempferol-3-o rutinoside was identified.

The study of the flavonoids and polyphenolcarboxylic acids for the *Fumaria* species was performed for the first time for the species harvested from the spontaneous Romanian flora and the identification of the compound kaempferol-3-o rutinoside for the species *Fumaria schleicheri* and of the maleic ester of the caffeic acid for the species *Fumaria officinalis* and *Fumaria schleicheri* confer novelty to the present study.

20. Quantitative determination of the flavonoids and of the polyphenolcarboxylic acids for the species of the *Fumaria* genus by spectrophotometry

After the qualitative characterization of the flavonoids and of the polyphenolcarboxylic acids for the extracts of the species *Fumaria schleicheri* and *Fumaria officinalis*, the quantitative analysis of these compounds was intended. A quantitative comparative analysis of these compounds was performed for the *Fumaria* species. The quantitative determination of the polyphenolcarboxylic compounds was performed, by a method described by the European Pharmacopoeia, VIIth edition, but the expression of the compounds was made in caffeic acid, not in chlorogenic acid, as specified by the monography. The analysis was performed for 5 extracts belonging to the species: *Fumaria vaillantii*, *Fumaria schleicheri*, *Fumaria officinalis*, *Fumaria rostellata*, *Fumaria jankae*. Flavonoid determination was performed by the method specified in the Romanian Pharmacopoeia, Xth edition, expressing of the compounds was made in rutoside.

By the comparative study of the 5 extracts belonging to the species of the *Fumaria* genus, we can conclude that the species *Fumaria vaillantii* is the richest in flavonoids and polyphenolcarboxylic acids. This species also presents a medium content of total flavonoids, in comparison with the other species, the medium value being situated around 6,260 %.

The species *Fumaria officinalis* presents a medium content of total flavonoids, but a high content of polyphenolcarboxylic acids, comparing to the species *Fumaria schleicheri*, which explains the presence of a large number of polyphenolcarboxylic compounds identified by HPLC-DAD and MS-TOF. The species *Fumaria schleicheri* contains a medium content of polyphenolcarboxylic acids.

the smallest content of polyphenolcarboxylic acids and flavonoids was identified in the species *Fumaria jankae*. Because for this species, these type of researches were not performed before, the present study confers to this research an innovative character.

21. The analysis of the antispasmodic action for the *Fumaria* species

Regarding the therapeutical activity of the vegetal extracts, antispasmodic activity was determined for two species belonging to the *Fumaria* genus.

Antispasmodic potential of some hydro-alcoholic solutions was tested (stylophine, *Fumaria schleicheri*, *Fumaria officinalis*), using the experimental model of the isolated ileum in Guinea pigs. The obtained results showed a medium antispasmodic effect, especially for the hydro-alcoholic solution of stylophine, which inhibited by 40.17% the contractions made by the Ach agonist, followed by the hydro-alcoholic solution of the species *Fumaria officinalis*, with a percent of inhibition of 31.20% and by the hydro-alcoholic solution of the species *Fumaria schleicheri* with a percent of inhibition of 27.44%.

22. The analysis of the diuretic, saluretic and uricosuric activity of the *Fumaria* species

Diuretic, saluretic and uricosuric activity of the dried extracts of *Fumaria officinalis* and *Fumaria schleicheri* was performed, by their administration in a dose of 250 mg/kg in Wistar male rat, with a medium weight of 200g. The results demonstrated an intense diuretic effect, statistically significant and similar to the one of furosemide, for both the dried extracts of *Fumaria officinalis* and *Fumaria schleicheri*, diuretic indexes being of 2,24 and 1,97.

Saluresis of the sodium ion was increased for both the dried extracts, the saluretic index of Na⁺ being 1,91 for the dried extract of *Fumaria officinalis* and 2,13 for the dried extract of *Fumaria schleicheri*. Saluresis of the potassium ion was superior even compared to the control group, which was treated with furosemide, the saluretic index of K⁺ being 2,42 for the dried extract of *Fumaria officinalis* and 2,53 for the dried extract of *Fumaria schleicheri*. Regarding the elimination of the uric acid, only the group treated with the dried extract of *Fumaria officinalis* showed statistically significant uricosuric effect.

These studies were made for the first time for the species *Fumaria schleicheri* and *Fumaria officinalis*, bringing this study originality and novelty.

GENERAL CONCLUSIONS

Morphologic and phytochemical complexity of the species belonging to *Fumaria* genus determine this to be a large research domain, starting from a morphological, anatomical, phytochemical, pharmacological and ending with the phylogenetic point of view.

Experimental research led to the identification of the main modalities of avoiding the substitutions of the officinal species with other species. At the same time, the studies led to demonstrating the presence of the active principles also in the content of other species, besides the officinal species. Regarding the pharmacological activity, a correlation between the contents of active principles of the studied species and the antispasmodic, diuretic, saluretic and uricosuric activity.

The researches in this thesis bring new contributions to the botanical, pharmacognostical and pharmacological characterization of the species of the *Fumaria* (*Fumariaceae*) genus.