**REZUMATUL RAPORTULUI ȘTIINȚIFIC**

***pentru anul 2022***

***„Studiul biologic și fitochimic al plantelor medicinale cu acțiune antioxidantă, antimicrobiană și hepatoprotectoare” cu cifrul nr. 20.80009.8007.24.***

***Programul de Stat
Director de proiect***

**CIOBANU Nicolae**

***Condiționarea și obținerea produselor extractive pentru studiu*** - au fost recoltate produsele vegetale din colecția Centrului Științifico Practic în domeniul Plantelor Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu”: *Agrimoniae herba (Agrimonia eupatoria* L*.), Cichorii herba (Cichorium intybus* L*.), Cynarae folia (Cynara scolymus* L*:),* *Hyperici herba (Hypericum perforatum* L*.), Rubi fruticosi folia (Rubus fructicosus sp.), Hyssopi herba (Hyssopus officinalis L.), Galii veri herba (Galium verum), Menthae herba),* produse vegetale bogate în compuși fenolici, flavonoide, uleiuri volatile. Totodată au fost introduse în cultura Centrului specii noi precum *Helichrysum italicum*, *Galium verum* și *G.aparine*, plantate cu material săditor vegetativ. Extractele uscate au fost obținute aplicând diverse metode: macerare fracționată, extracțiela baia de apă cu refrigerent șibaia cu ultrasunet, extracție supercritică cu CO2. Aplicarea acestor metode este indusă de natura compușilor chimici specifici fiecărui produs vegetal. Produsele extractive au fost analizate calitativ și cantitativ (totalul de polifenoli, prin metoda spectrofotometrică după Folin Ciocalteu) și totalul de flavonoide (metoda spectrofotometrică cu clorură de aluminiu).

***Determinarea activității antioxidante* *in vitro*,** s-a realizat prin metode specifice cu utilizarea radicalilor liberi: DPPH, ABTS/TEAC și prin chelarea metalelor grele (testul ferrozina). Rezultate denotă activitate antioxidantă pronunțată, *după metoda DPPH*, pentru extractul obținut din părți aeriene de *Hypericum perforatum* (IC50 = 19,08 ±0,64), urmat de *Hyssopys officinale (* IC50 =34,78±1,2), *Agrimonia eupatoria (*IC50 = 45,55±0.01) și frunze de *Rubus fructicosus (*IC50 = 45,39±0.1 µg/ml). Părțile aeriene de turiță (*Agrimonia eupatoria)* își manifestă activitate antioxidantă, clasându-se în topul extractelor studiate *prin metoda de neutralizare a radicalului ABTS* (59,18±0.30), urmate defrunze *Cynara scolymus (*57,15±0.05) și părți aeriene de *Cichórium íntybus* (31,29±0.25 µM TEAC/g). *Capacitatea de chelare a fierului*, realizată în comparație cu EDTA (99,03), prezintă activitate mai înaltă la extractul din *Agrimonia eupatoria* (88,07), urmat de *Cichorium intybus* (87,25), *Cynara scolymus* (48,50), *Hyperici flores* (45,71), *Hyssopi herba* (33,12) și *Rubi folia* (31, 34%).

***Activitatea antimicrobiană*** ale extractelor analizate a fost determinată prin metoda diluțiilor succesive, care permite determinarea concentraţiei minime inhibitorii (CMI mg/ml;) şi concentraţiei minime bactericide (CMB mg/ml). Rezultatele denotă activitate antimicrobiană a extractelor manifestată față de tulpinile: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CMI, de la 0,156 pentru *Agrimonia eupatoria*, până la 2,5 mg/ml; pentru *Cichorium intybus;* respectiv pentru CMB, se constată activitatea în diapazonul de 0,625-5,0 mg/ml). Față de tulpina *Bacillus cereus* ATCC 11778, cel mai activ se manifestă extractul din părți aeriene de *Hypericum perforatum* (CMI-0,07; CMB-0,156 mg/ml); pentru tulpina *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 manifestă activitate antibacteriană extractul din *Agrimonia eupatoria* (CMI-2,5 mg/ml; CMB-5 mg/ml) și cel din frunze de *Rubus fruticosus (CMI-5* mg/ml*). Activitatea antifungică* față de tulpina *Candida albicans* ATCC 10231a manifestat doar un extract obținut din *Cynara scolymus* (CMI-5mg/ml, CMB-5mg/ml). Constatăm că extractele din produsele vegetale studiate nu au manifestat activitate antibacteriană față de tulpina *Escherichia coli* ATCC 25922, Gram-negativ, fiind mai active față de tulpinile Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus, Bacillus cereus).*

***Screeningul potențialului hepatoprotector al unor extracte pe metode de hepatită toxică, indusă cu tetraclorură de carbon,*** s-a realizat pentru extractele părți aeriene de turiță *Agrimoniae herba* șicicoare *Cichorii herba* (în doze de100 mg, 200 mg și 400 mg kg corp) pentru ambele extracte,pe model de hepatită toxică, indusă cu soluție uleioasă de tetraclorură de carbon (CCL4)la șobolani albi, cu administrare subcutanată în doza de 0,4 g /100 g la kg corp, timp de 7 zile consecutive. La a 3-a, a 7-a și a 14-a zi, s-au prelevat probe pentru parametrii biochimici: analiza generală a sângelui. Paralel cu prelevarea probelor de sânge au fost cântărite și prelevate organele recoltate pentru analiza morfologică  (ficat, inimă, splină, rinichi, creier, plămâni)  în realizarea screeningului potențialului hepatoprotector, cu prelucrarea statistică a datelor.

**Activity summary and project results**

***Conditioning and obtaining extractive products for the study –*** the following vegetal products were harvested from Scientific Practical Center in the field of Medicinal Plants collection at Nicolae Testemițanu SUMPh: *Agrimoniae herba (Agrimonia eupatoria* L*.), Cichorii herba (Cichorium intybus* L*.), Cynarae folia (Cynara scolymus* L*:),* *Hyperici herba (Hypericum perforatum* L*.), Rubi fruticosi folia (Rubus fructicosus sp.), Hyssopi herba (Hyssopus officinalis L.), Galii veri herba (Galium verum), Menthae herba (Mentha sp.sp),* the plants being rich in flavonoids, phenolic compounds and essential oils. At the same time, new plant species were introduced in the Scientific Practical Center in the field of Medicinal Plants, such as *Helichrysum italicum*, *Galium verum* and *G.aparine*, planted with vegetative propagation material.

Dry extracts were obtained through different methods: fractional maceration, water-bath extraction with a refrigerant and supercritical carbon dioxide extraction.

The used method depends on the specific nature of the chemical compounds in each of the studied products. The extracted products were qualitatively and quantitatively analysed (the total of polyphenols through Folin–Ciocalteu spectrophotometric method) and the total of the flavonoids (using aluminium chloride spectrophotometric method).

***In-vitro determination of antioxidant activity***, was accomplished through specific methods such as using DPPH, ABTS/TEAC free radicals and heavy metal chelating ferrozine based assay. The results demonstrate a strong antioxidant activity following the DPPH method, for the extracts obtained from the aerial parts of de *Hypericum perforatum* (IC50 = 19,08 ±0,64), followed by *Hyssopys officinale* (IC50 =34,78±1,2) and *Agrimonia eupatoria (*IC50 = 45,55±0.01) as well as leaves of *Rubus fructicosus (*IC50 = 45,39±0.1 µg/ml). Aerial parts of Agrimony (*Agrimonia eupatoria)* demonstrate antioxidant activity and are classified on the top among the extracts studied through the neutralisation of the *ABTS radical* (59,18±0.30), followed by the leaves of *Cynara scolymus (*57,15±0.05) and aerial parts of *Cichórium íntybus* (31,29±0.25 µM TEAC/g). The *iron chelating capacity*, when compared to EDTA (99,03), demonstrates a higher activity in *Agrimonia eupatoria* (88,07) extract, followed by *Cichorium intybus* (87,25), *Cynara scolymus* (48,50), *Hyperici flores* (45,71), *Hyssopi herba* (33,12) and *Rubi folia* (31, 34%) extracts.

***Antimicrobial activity*** of the analysed extracts was determined through serial dilutions, which allows for determination of the minimal inhibitory concentration (MIC mg/ml) and minimal bactericidal concentration (MBC mg/ml). The results denote antimicrobial activity on the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain (MIC, starting with 0,156 for *Agrimonia eupatoria* up to 2,5 mg/ml *Cichorium intybus*. For MBC the activity is determined in the range between 0,625 and 5,0 mg/ml. The most activity on the *Bacillus cereus* ATCC 11778 strain was demonstrated by the aerial parts of *Hypericum perforatum* (MIC-0,07; MBC-0,156 mg/ml) and for the *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 strain, the antimicrobial activity was determined by the *Agrimonia eupatoria* extract (MIC - 2,5 mg/ml; MBC-5 mg/ml) as well as by *Rubus fruticosus* (MIC-5 mg/ml). *The antifungical activity* on the *Candida albicans* ATCC 10231 strain was only manifested by one extract, obtained from *Cynara scolymus* (MIC-5mg/ml, MBC-5mg/ml). It should be noted that the extracts of studied vegetal products have not manifested any type of antibacterial activity on the Gram-negative *Escherichia coli* ATCC 25922 strain hence have demonstrated being more active on the Gram-positive strains (*Staphylococcus aureus, Bacillus cereus*).

***The screening of hepatoprotective potential of several extracts using the carbon tetrachloride induced toxic hepatitis method*** which was accomplished for the extracts of aerial parts of Agrimony - *Agrimoniae herba* and Chicory - *Cichorii herba* (in doses of 100 mg, 200 mg and 400 mg/kg), for both extracts, using the toxic hepatitis model, induced by subcutaneous injecting the white rats with oil solution of carbon tetrachloride (CCl4), of the chosen dose of 0,4 g /100 g, 7 days in a row. On day 3, 7 and 14, blood samples were drawn for biochemical analyses. At the same time, the organs were harvested for the morphological analysis (liver, heart, spleen, kidneys, brain and lungs) with the potential achievement of hepatoprotective screening and the statistical data processing.