



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

**REZUMATUL RAPORTULUI ȘTIINȚIFIC**  
*pentru anul 2023*

**Cifrul proiectului 20.80009.8007.24**

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

*Program de Stat*

*CIOBANU Nicolae*



## UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

Au fost introduse în cultura centrului CȘPDPM a USMF „Nicolae Testemițanu” specii noi din genul *Helichrysum* și *Galium*. S-au condiționat produse vegetale: *Agrimoniae herba*, *Cichorii herba*, *Cynarae folia*, *Hyperici herba*, *Hyssopi herba*, *Galii veri herba*, *Rubi fruticosi folia*, cu obținerea extractelor uscate prin macerare fracționată cu agitator magnetic, la baia de apă cu refrigerent și cu ultrasunet, în scopul optimizării metodelor de extragere a compușilor fenolici.

Validarea metodei spectrofotometrice de dozare a totalului de flavonoide în extractele uscate, obținute din flori și din părți aeriene de *H. perforatum* a demonstrat că metoda este corectă și poate fi folosită în determinarea cantitativă a totalului de flavonoide în extractele uscate din *Hyperici herba* și *Hyperici flores* recalculat la rutozidă, prin determinarea liniarității, exactității și a preciziei.

Determinarea calitativă și cantitativă a proteinelor în extracte uscate din părți aeriene de *G. verum*, *C. intybus* și *A. eupatoria* s-a realizat prin aplicare metodelor: SDS- PAGE gel și Bradford. Analiza rezultatelor confirmă prezența proteinelor în extracte, cu o greutate moleculară mai mică decât standardele utilizate (*albumină serică bovină*, *conalbumină*, *ovalbumina*, *γ-globulina umană*). Concentrația de proteine în extractele analizate determinată prin testul Bradford, pe baza curbei de calibrare a concentrației față de absorbție ( $\mu\text{g/ml}$ ), denotă că o extracție mai bună a proteinelor se realizează cu un tampon cu pH neutru. Metoda s-a realizat în mobilitatea și instruirea cadrelor didactice prin CEEPUS, CIII-RO-0010, MPC-2021-01278, în colaborare cu Institutul de Chimie Analitică, Universitatea din Viena, Austria.

Activitatea antimicrobiană *in vitro* în extracte uscate sp. *Galium verum* și sp. *Hyssopus officinalis*, s-a realizat prin metoda diluțiilor succesive, cu determinarea concentrației minime inhibitorii și concentrației minime bactericide în diluțiile: 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.312; 0.156; 0.078 mg/ml, pe tulpini de referință: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Bacillus cereus* ATCC 11778; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 și *Candida albicans* ATCC 10231. Extractele au prezentat activitate bactericidă împotriva tulpinilor gram-pozitive (*B. cereus*), iar activitatea antifungică împotriva *C. albicans* nu a fost confirmată în diluțiile analizate. Activitatea extractelor etanolice manifestându-se față de microorganisme patogene gram-pozitive, în concentrații testate.

Pentru prelucrarea statistică a probelor biochimice în realizarea screeningului potențialului hepatoprotector al extractelor obținute din părți aeriene de *Agrimonia eupatoria* și *Cichorium intybus* pe modele de hepatită toxică indusă cu tetraclorura de carbon  $\text{CCl}_4$  la animale de laborator (șobolani) rezultatele s-au exprimat ca medie  $\pm$  eroarea standard pe baza a trei repetări. Prelucrarea statistică s-a realizat cu ajutorul pachetului software SPSS, versiunea 23. În scopul etalării diferențelor dintre loturi s-au aplicat testele post Hoc pentru comparații multiple Tukey după One-way ANOVA, pragul de semnificație  $P \leq 0,05$ . Extractele de *A. herba* și *C. herba* influențează pozitiv indicii metabolismului proteic (ALT, AST, proteina totală, albumine, creatinină, uree,  $\gamma$ -GTP, PCE); metabolismului mineral (calciu, fosfor, fosfataza alcalină); metabolismul lipidic și peroxidării lipidice (colesterol, trigliceride) și indicii sistemului antioxidant în doze de 100, 200, 400 mg/kg corp. Medicația hepatitei toxice cu extractele de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* în doze de 100, 200 și 400 mg/kg corp contribuie la micșorarea și normalizarea indicilor biochimici și histopatologici, prin interacțiuni între extractele studiate și membrane celulare la o frontieră importantă a biologiei celulare.



## UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

In the center of the SPCFMP of "Nicolae Testemițanu" SUMPh were grown new species from the genus *Helichrysum* and *Galium* for the first time. Vegetable products: *Agrimoniae herba*, *Cichorii herba*, *Cynarae folia*, *Hyperici herba*, *Hyssopi herba*, *Galii veri herba* and *Rubi fruticosi folia* were produced. In order to optimize the extraction methods of phenolic compounds, dry extracts were obtained by fractional maceration with a magnetic stirrer, ultrasonic bath and water bath with condenser.

The validation of the spectrophotometric method by determining linearity, accuracy and precision for the determination of total flavonoid content in dry extracts obtained from flowers and aerial parts of *H. perforatum*, demonstrated that the method is robust and can be used in the quantitative determination of total flavonoids in the dry extracts of *Hyperici herba* and *Hyperici flores*, recalculated to rutoside.

The qualitative and quantitative determination of proteins in dry extracts from the aerial parts of *G. verum*, *C. intybus* and *A. eupatoria* was carried out by applying the SDS-PAGE gel and Bradford methods. The results confirmed the presence of proteins in the extracts, with a lower molecular weight than the standards used (bovine serum albumin, conalbumin, ovalbumin, human  $\gamma$ -globulin). The protein concentration in the analyzed extracts determined by the Bradford assay, based on the calibration curve of concentration versus absorbance ( $\mu\text{g/ml}$ ), denotes that better protein extraction is achieved with a neutral pH buffer. The method was carried out in the mobility and training of teaching staff through CEEPUS, CIII-RO-0010, MPC-2021-01278, in collaboration with the Institute of Analytical Chemistry, University of Vienna, Austria.

*In vitro* antimicrobial activity assay of *Galium verum* sp. and *Hyssopus officinalis* sp. dry extracts were achieved by the method of successive dilutions, with determination of the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration in dilutions of: 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.312; 0.156; 0.078 mg/ml, on reference strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Bacillus cereus* ATCC 11778; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and *Candida albicans* ATCC 10231. The extracts showed bactericidal activity against gram-positive strains (*B. cereus*), nevertheless, antifungal activity against *C. albicans* was not confirmed in the analyzed dilutions. In tested concentrations, the ethanolic extracts manifested activity against gram-positive pathogenic microorganisms.

For the statistical processing of the biochemical samples in the screening of the hepatoprotective potential of the extracts obtained from the aerial parts of *Agrimonia eupatoria* and *Cichorium intybus* on models of toxic hepatitis induced with carbon tetrachloride  $\text{CCl}_4$  in laboratory animals (rats), the results were expressed as an average  $\pm$  standard error based on three replicates. The statistical processing was carried out with the help of the SPSS software package, version 23. In order to show the differences between the groups, Tukey's post Hoc tests for multiple comparisons were applied after One-way ANOVA, the threshold of significance of  $P \leq 0.05$ . *A. herba* and *C. herba* extracts positively influenced protein metabolism indices (ALT, AST, total protein, albumin, creatinine, urea,  $\gamma$ -GTP, PCE); mineral metabolism (calcium, phosphorus, alkaline phosphatase); lipid metabolism and lipid peroxidation (cholesterol, triglycerides) and indicators of the antioxidant system in doses of 100, 200 and 400 mg/kg body. The medication of toxic hepatitis with the extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* in doses of 100, 200 and 400 mg/kg body contributes to the reduction and normalization of biochemical and histopathological indices through interactions between the studied plant extracts and cell membranes at an important frontier of cell biology.