

ARTICOL DE CERCETARE

Acțiunea extractelor din *Taraxacum officinale* asupra conținutului de tioli

Ala Fulga^{1,2*}, Olga Tagadiuc¹, Mihail Todiras³,
Valentin Gudumac²

¹Catedra de biochimie și biochimie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Laboratorul de biochimie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

³Centrul de cercetare în sănătate și biomedicină, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 23.08.2021
Data acceptării spre publicare: 05.09.2021

Autor corespondent:

Ala Fulga, student-doctorand, asistent universitar
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
str. Nicolae Testemițanu, nr. 27, Chișinău, Republica Moldova, MD-2025
e-mail: ala.fulga@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Conținutul de tioli eritrocitari poate fi modificat sub influența extractelor din *Taraxacum officinale*. Astfel de acțiune poate fi influențată de mai mulți factori.

Ipoteza de cercetare

Taraxacum officinale manifestă acțiune antioxidantă, prin implicarea sa în homeostazia tiol-disulfidică celulară și această influență poate fi diferită în cazul extractelor din rădăcini și frunze.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Extractele din *Taraxacum officinale* manifestă activitate antioxidantă puternică. Această acțiune este influențată de partea plantei, tipul și concentrația extractantului.

Rezumat

Introducere. *Taraxacum officinale* F. H. Wigg (TO) reprezintă o sursă importantă de compuși biologic activi cu diverse funcții, inclusiv antioxidantă. Reactivitatea înaltă a grupelor tiolice implică aceștia în calitate de primii antioxidanți consumați în cazul stresului oxidativ. Scopul acestui studiu a fost de a evalua mecanismele de acțiune ale diferitor extracte din TO asupra conținutului de tioli eritrocitari.

Material și metode. În studiu au fost utilizate rădăcini (TOR) și frunze uscate de TO (TOF) extrase pe etanol de diver-

RESEARCH ARTICLE

The action of *Taraxacum officinale* extracts on thiols content

Ala Fulga^{1,2*}, Olga Tagadiuc¹, Mihail Todiras³,
Valentin Gudumac²

¹Department of biochemistry and clinical biochemistry, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Laboratory of biochemistry, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Health and Biomedicine Research Center, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 23.08.2021
Accepted for publication: 05.09.2021

Corresponding author:

Ala Fulga, PhD student, university assistant
Department of biochemistry and clinical biochemistry
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
27, Nicolae Testemitanu str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2025
e-mail: ala.fulga@usmf.md

What is not known yet, about the topic

The RBC's thiols content can be changed by *Taraxacum officinale* extracts. Such kind of action can be influenced by many factors.

Research hypothesis

Taraxacum officinale exhibit an antioxidant action, by involvement in the cellular thiol-disulfide redox state and this influence can be different in case of roots and leaves.

Article's added novelty on this scientific topic

Taraxacum officinale extracts exhibit a strong antioxidant activity. This action is influenced by plant's part, type and concentration of the extractant.

Abstract

Introduction. *Taraxacum officinale* F. H. Wigg (TO) represents an important source of biologically active compounds with different functions, including antioxidative. The high reactivity of thiol groups involves them as first antioxidants consumed in case of oxidative stress. The aim of this research was to evaluate the mechanisms of action of different TO extracts on RBC's thiols content.

Material and methods. TO dried roots (TOR) and leaves (TOL) extracts on ethanol (10%, 20%, 25%, 40%, 50% and 80%) and dimethyl sulfoxide (DMSO) were used. The thiols

se concentrații (10%, 20%, 25%, 40%, 50% și 80%) și dimetil sulfoxid (DMSO). Conținutul de tioli a fost evaluat în conformitate cu metoda Erel *et al.* (2014), în modifi cația noastră.

Rezultate. În cazul extractelor etanolice din TOR, conținutul grupelor SH-libere ($\mu\text{M/g Hb}$) a fost evaluat după cum urmează: în alcool de 10% - $3,21 \pm 0,11$, 20% - $3,58 \pm 0,08$, 25% - $2,88 \pm 0,04$, 40% - $2,91 \pm 0,06$, 50% - $3,18 \pm 0,07$ și în 80% - $3,08 \pm 0,03$. Aceeași grupă de tioli în cazul extractului cu DMSO a fost cuantificată ca $3,23 \pm 0,23$. Conținutul grupelor SH-totale a fost diferit în funcție de concentrația etanolului: 10% - $3,36 \pm 0,13$, 20% - $3,72 \pm 0,11$, 25% - $3,19 \pm 0,12$, 40% - $3,01 \pm 0,01$, 50% - $3,38 \pm 0,17$ și în 80% - $3,24 \pm 0,07$. În extractul din TOR pe DMSO nivelul tiolilor totali a fost evaluat cu $3,53 \pm 0,18$.

Conținutul grupelor SH-libere s-a modificat sub influența extractelor din TOF, precum: în etanol de 10% - $3,20 \pm 0,23$, 20% - $3,24 \pm 0,03$, 25% - $3,04 \pm 0,16$, 40% - $2,88 \pm 0,06$, 50% - $3,05 \pm 0,09$, 80% - $3,02 \pm 0,01$, iar în DMSO - $3,30 \pm 0,31$. Cantitatea grupelor SH-totale: în extractele pe alcool de 10% - $3,39 \pm 0,25$, 20% - $3,47 \pm 0,05$, 25% - $3,28 \pm 0,04$, 40% - $3,12 \pm 0,02$, 50% - $3,26 \pm 0,12$, 80% - $3,15 \pm 0,02$ și $3,79 \pm 0,08$ sub influența TOF pe DMSO. Analiza comparativă a pus în evidență doar două extracte etanolice din TOF (20% și 25%), care au crescut conținutul de SH. TOF s-a dovedit a fi capabil de a menține concentrația ridicată de tioli eritrocitari, fapt neobservat în cazul TOR.

Concluzii. Studiile noastre anterioare și actuale demonstrează, că frunzele și rădăcinile din *Taraxacum officinale* sunt o sursă valoroasă de diverse substanțe biologice active, implicate în diferite mecanisme biochimice, inclusiv protecția antioxidantă. Extractele din TO influențează asupra nivelului tiolic eritrocitar, care este dependent de tipul extractantului și concentrația acestuia. În general, influența TO ține de micșorarea nivelului de tioli, mecanism care depinde probabil de conținutul formelor redusă și oxidată din probele experimentale, precum și de concentrațiile, combinațiile substanțelor biologice active în diferite tipuri de extracte. Cu toate acestea mecanismul activității sale antioxidante rămâne neclar și necesită studii suplimentare.

Cuvinte cheie: *Taraxacum officinale*, extracte alcoolice, DMSO, tioli, homeostazie, eritrocite.

Introducere

Tiolii/mercaptanii/grupele sulfhidril (SH) ne fascinează prin funcțiile exercitate în procesele biologice și farmacologice. În prezent este foarte important să înțelegem funcția acestora în sistemele vii, deoarece homeostazia tiol/disulfidică joacă un rol critic în apărarea antioxidantă și detoxifiere. SH sunt reprezentate în organismele vii de glutatation, redus și oxidat (GSH și GSSG), cisteina (Cys), și homocisteina (Hcy). Acești compuși participă în multiple procese fiziologice și posedă funcții cu roluri vitale.

Studiile în domeniu au demonstrat, că ateroscleroza, diabetul, infarctul miocardic și tumorile sunt asociate cu nive-

content was evaluated in accordance with Erel *et al.* (2014) method, modified by us.

Results. In case of TOR ethanol extracts, native-SH content ($\mu\text{M/g Hb}$) was as follows: 10% - $3,21 \pm 0,11$, 20% - $3,58 \pm 0,08$, 25% - $2,88 \pm 0,04$, 40% - $2,91 \pm 0,06$, 50% - $3,18 \pm 0,07$ and in 80% - $3,08 \pm 0,03$. The same thiols were evaluated as $3,23 \pm 0,23 \mu\text{M/g Hb}$ in TOR DMSO extracts. The total-SH amount was also different. In ethanolic extracts it changed as follows: in alcohol of 10% - $3,36 \pm 0,13$, 20% - $3,72 \pm 0,11$, 25% - $3,19 \pm 0,12$, 40% - $3,01 \pm 0,01$, 50% - $3,38 \pm 0,17$ and in 80% - $3,24 \pm 0,07$. In case of roots extracted with DMSO total thiols level was evaluated as $3,53 \pm 0,18$.

The content of native-SH ($\mu\text{M/g Hb}$) changed under the TOL influence, extracted with ethanol of different concentration, as follows: 10% - $3,20 \pm 0,23$, 20% - $3,24 \pm 0,03$, 25% - $3,04 \pm 0,16$, 40% - $2,88 \pm 0,06$, 50% - $3,05 \pm 0,09$ and in 80% - $3,02 \pm 0,01$. The same thiols were evaluated as $3,30 \pm 0,31$ under the DMSO leaves extracts influence. The total-SH amount changed under the influence of ethanol extracts as follows: in alcohol of 10% - $3,39 \pm 0,25$, 20% - $3,47 \pm 0,05$, 25% - $3,28 \pm 0,04$, 40% - $3,12 \pm 0,02$, 50% - $3,26 \pm 0,12$ and $3,15 \pm 0,02$ in ethanol extracts of 80%. In case of DMSO leaves extracts total thiols level was evaluated as $3,79 \pm 0,08$. Overall analysis revealed only two TOL ethanolic extracts of (20% and 25%), that increased SH-level, compared to all other extracts. TOL abound in antioxidants compounds capable of maintaining the high concentration of thiols in erythrocytes, but the roots extracts do not possess this capacity.

Conclusions. Our previous and present studies demonstrate that *Taraxacum officinale* leaves and roots are a valuable source of different classes of biologically active substances, involved in various biochemical mechanisms, including antioxidant protection. TO extracts influence on RBC's thiols level depends of type of extractant and its concentration. The overall influence of TO is to decrease the thiols level, mechanism which probably depends on their reduced and oxidized forms level in experimental samples, as well on various concentrations and combinations of biologically active substances in different types of extracts. However, the mechanism of its antioxidant activity remains unclear and requires further studies.

Key words: *Taraxacum officinale*, alcohol extract, DMSO extract, thiols, homeostasis, erythrocytes.

Introduction

Thiols/mercaptans/sulfhydryl groups (SH) fascinate us by their role in biological and pharmacological processes. Nowadays is very important to understand their function in living systems, because thiol/disulfide homeostasis plays a critical role in antioxidant defense and detoxification. SH are represented in living organisms by glutathione, reduced and oxidized (GSH and GSSG), cysteine (Cys), and homocysteine (Hcy). These compounds participate in many physiological processes and play vital roles.

Many studies demonstrated that atherosclerosis, diabetes, myocardial infarction, and tumors, have been associated with

lurile crescute a marcherilor stresului oxidativ. Consumul de produse bogate în antioxidanți naturali, alimente și nutraceu-tice, au un efect pozitiv asupra menținerii echilibrului oxidant-antioxidant. Multe substanțe cu proprietăți antiradicalice și antioxidante au fost identificate și utilizate ca componente ale medicamentelor sau suplimentelor alimentare. Plantele medicinale și extractele lor, reprezintă de asemenea surse de antioxidanți naturali, deosebit de frecvent utilizate.

Taraxacum officinale F. H. Wigg (TO), cunoscut și sub numele de *Dandelion* este o plantă ce aparține familiei *Asteraceae* (*Compositae*), cunoscută în calitate de plantă non-toxică, cu o valoare medicală excepțională. Această plantă este bogată în flavonoide cum ar fi acidul cafeic, acidul clorogenic, luteolina și luteolina 7-glucozidă [1]. Extractul de TO conține beta-caroten, provitamina A, vitaminele C, D și B, xantofilă, clorofilă, colină, fier, siliciu, magneziu, sodiu, potasiu, zinc, mangan, cupru, fosfor, aproape toate fiind cunoscute ca puternici eliminatori de radicali liberi [2]. Mai mult, prezența acizilor grași, enzimelor, vitaminelor și mineralelor în diferite rapoarte și cantități, demonstrează efectele antiinflamatorii, antioxidante, coleretice, diuretice, hepatoprotectoare și imunostimulatoare [3].

Scopul acestei cercetări a fost de a evalua influența diferitor extracte din TO pe bază de etanol și DMSO asupra conținutului de tioli eritrocitari.

Material și metode

Rădăcinile și frunzele proaspete de *Taraxacum officinale* F. H. Wigg au fost recoltate dintr-un habitat natural din Republica Moldova în luna Mai 2017. După spălare și cântărire materialul vegetal a fost plasat în condiții de laborator la temperatura camerei, timp de 2 săptămâni. Rădăcinile și frunzele uscate au fost măcinate până la o pulbere fină cu ajutorul unei râșnițe de cafea (*Scarlett SC-4145*). Pulberea din rădăcini și frunze au fost extrase în 100 mL etanol de 80%, 50%, 40%, 25% 20% și 10%. De asemenea s-a procedat cu pulberea din rădăcini și frunze extrase în 100 mL de 0,1% dimetil sulfoxid (DMSO, Sigma). Extracțiile au fost realizate la temperatura camerei timp de 24 de ore, proces urmat de filtrare cu ajutorul hârtiei de filtru Watman nr. 1. Din fiecare tip de extract, alicote de 1,5 ml au fost centrifugate la MPW 370, timp de 5 min, la 5000 rpm. Puritya probelor a fost confirmată prin absența stratificării și sedimentării.

Sângele persoanelor sănătoase a fost diluat 1:4 v/v cu DMEM (Dulbecco medium), amestecat cu gentamicină (100 μg/ml), heparină (2,5 un/ml) și L-glutamină (0,6 mg/ml). La sângele diluat (0,9 ml) s-au adăugat extractele de TO (0,1 ml) în toate godeurile de testare, cu excepția grupului de control, în care extractele de TO au fost substituite cu soluții echivalente de etanol de aceeași concentrație sau 0,1% DMSO. După 24 de ore de incubare la 37°C în condiții de atmosferă umedă cu 3,5% CO₂, microplăcile au fost centrifugate timp de 5 min, la 1500 rpm. Masa eritocitară obținută (15 μL) a fost utilizată pentru evaluarea ulterioară a conținutului de grupe SH-libere și SH-totale. Toate experimentele au fost efectuate în triplicat în microplăci cu 24-godeuri.

Nivelul de tioli a fost măsurat grație capacității lor de a interacționa stoichiometric cu reactivul Ellman (acidul 5,5'-di-

elevated levels of oxidative stress markers. The consumption of products rich in natural antioxidants, of certain foods and nutraceuticals, has a positive effect on maintaining the oxidant-antioxidant balance. Many substances with antiradical and antioxidant properties have been identified and used as components of drugs or dietary supplements. Medical plants and their extracts are also particularly well-exploited sources of natural antioxidants.

Taraxacum officinale F. H. Wigg (TO), known else as *dandelion* – is a plant belonging to *Asteraceae* (*Compositae*) family, known as a non-toxic herb with exceptional value. This plant is rich in flavonoids such as caffeic acid, chlorogenic acid, luteolin and luteolin 7-glucoside [1]. TO extract contains beta-carotene, provitamin A, vitamins C, D and B group, xanthophyll, chlorophyll, choline, iron, silicon, magnesium, sodium, potassium, zinc, manganese, copper, phosphorus, almost all of them being known as strong free radical scavengers [2]. Moreover, the presence of fatty acids, enzymes, vitamins and minerals in various ratios and amounts demonstrates antiinflammatory, antioxidative, choleric, diuretic, hepatoprotective and immunostimulatory effects [3].

The aim of this research was to evaluate the influence of different TO ethanol and DMSO extracts on RBC's thiols content.

Material and methods

Fresh roots and leaves of *Taraxacum officinale* F. H. Wigg were harvested from a natural habitat from Republic of Moldova in May 2017. After cleaning and weighing, the vegetal material was placed in the lab conditions at room temperature, for 2 weeks. Dried roots and leaves were grinded (*Scarlett Coffee grinder SC-4145*) to a fine powder and samples were soaked in 100 mL of ethanol of (80%, 50%, 40%, 25% 20% and 10%). Also the powder of roots and leaves were soaked in 100 ml of dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma) of 0,1%. The extractions have been realized at room temperature for 24 hours, process followed by filtration through Watman No.1. Aliquots of 1,5ml of every type of extract were centrifuged with MPW 370, during 5 min, at 5000 rpm. The samples purity was confirmed by the absence of stratification and sedimentation.

Healthy persons' blood was diluted 1:4 v/v with DMEM (Dulbecco medium), mixed up with gentamicin (100 μg/ml), heparin (2.5 un/ml) and L-glutamine (0.6 mg/ml). To the diluted blood (0,9 ml), TO extracts (0.1 ml) were added in all test wells, except for the control group, in which the TO extracts were replaced with equivalent amount and concentration of alcohol or DMSO. After 24 hours of incubation at 37°C and 3,5% CO₂ humidified atmosphere the microplates were centrifuged for 5 min, at 1500 rpm. The obtained erythrocytes mass (15 μL) was used for further native-SH and total-SH content assessments. All experiments were done in triplicate in 24-wells microplates.

The thiols level was measured due to their ability to stoichiometrically interact with Ellman reagent (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic) acid – DTNB), that is reduced in the exchange action, forming a mixed disulphide and releasing one mol-

tiobis-(2-nitrobenzoic) sau DTNB), care fiind redus formează un amestec disulfidic și eliberează o moleculă de acid 5-tionitrobenzoic (TNB), cantitatea căruia poate fi măsurată la 412 nm. Efectul extractelor de TO asupra homeostaziei tiol/disulfidice a fost apreciat conform metodei lui Erel *et al.* (2014), în modificarea noastră, conform căreia concentrația de tioli liberi și totali sunt măsurate simultan printr-un test asociat [4].

Nivelul de grupuri SH-libere a fost măsurat cu reactivul Ellman modificat (30 mg clorură de sodiu dizolvată în 50,0 mL soluție apă-metanol (50% v/v)). Concentrația finală de NaCl a fost de 10,0 mM. Cantitatea de SH-totali a fost evaluată prin dizolvarea a 20 mg de borohidrat de sodiu (NaBH_4) în 50,0 mL soluție apă-metanol (50% v/v). Concentrația finală de NaBH_4 a fost de 10,0 mM. În ambele cazuri a fost adăugat reactivul obținut prin dizolvarea a 50 μL aldehida formică (40%) și 380 mg EDTA în 100 mL tampon TRIS – HCl (0,1 M, pH 8,2). Ultimul reactiv adăugat a fost obținut prin dizolvarea a 40 mg de DTNB în 10,0 mL metanol. Concentrația finală a DTNB a fost de 10,0 mM.

În calitate de soluție de calibrare a fost utilizat 2-mercaptoetanolul (16 μL de 2-mercaptoetanol în 20 mL $\text{H}_2\text{O}_{\text{distil}}$) cu concentrația finală de 10,0 mM. Jumătate din valoarea diferenței dintre cantitatea de SH-total și SH-liber reprezintă cantitatea legăturilor disulfidice. Măsurările au fost efectuate cu ajutorul dispozitivului *Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Microplate Reader* (BioTek Instruments, USA).

Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul programului GraphPad 8.0 (*GraphPad Prism Software, v.8, San Diego, CA*); WINSTAT (*R.Fitch Software*). În studiu au fost utilizați testul Mann-Whitney U (comparația între grupe) și testul de corelație Spearman (r_s). Rezultatele au fost prezentate sub formă de medii cu deviațiile standard ($M \pm SD$). Valorile cu p egal sau mai mic de 0,05 au fost considerate statistic semnificative.

Sângele utilizat în cercetare a fost extras de la șase persoane sănătoase, cu vârsta cuprinsă între 28 și 38 ani. Toți participanții și-au dat consimțământul informat, atât oral, cât și în scris, în conformitate cu Declarația de Principii Etice a Asociației Medicale Mondiale de la Helsinki pentru cercetarea medicală, care implică subiecți umani.

Acest studiu a fost aprobat de Comitetul de Etică al Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemitanu" (certificat nr. 81 din 19.09.2020).

Rezultate

Influența extractelor din rădăcinile de *Taraxacum officinale* (TOR) asupra conținutului de tioli eritrocitari

Cantitatea de grupuri SH-libere ($\mu\text{M/g Hb}$) s-a modificat în funcție de concentrația alcoolului, precum: 10% $-3,21 \pm 0,11$, 20% $-3,58 \pm 0,08$, 25% $-2,88 \pm 0,04$, 40% $-2,91 \pm 0,06$, 50% $-3,18 \pm 0,07$ și în 80% $-3,08 \pm 0,03$. Conținutul de tioli SH-liberi a fost evaluat cu $3,23 \pm 0,23$ sub influența rădăcinilor de TO extrase cu DMSO (Tabelul 1). În cazul extractelor etanolice, cantitatea de SH-liberi a corelat statistic semnificativ, negativ, moderat cu concentrația etanolului ($r_s = -0,48$, $p = 0,04$).

Cantitatea de SH-total de asemenea a fost diferită, în funcție de extractant. În extractele etanolice aceasta s-a modificat după cum urmează: în alcool de 10% $-3,36 \pm 0,13$,

ecule de 5-thionitrobenzoic acid (TNB), which amount can be measured at 412 nm. The effect of TO extracts on thiol/disulphide homeostasis was assessed to the modified by us Erel *et al.* (2014) method, according to which the concentrations of native and total thiols were simultaneously measured in a paired test [4].

The native-SH level was measured by a modified Ellman reagent (30 mg of sodium chloride dissolved in 50,0 mL of water-methanol solution (50% v/v)). The final concentration of NaCl was 10,0 mM. The amount of total-SH was evaluated by dissolving 20 mg of sodium borohydrate (NaBH_4) in 50,0 mL of water-methanol solution (50% v/v). The final concentration of NaBH_4 was 10,0mM. In both cases was poured the reagent obtained by dissolving 50 μL of formaldehyde (40%) and 380 mg EDTA in 100 mL TRIS – HCl buffer (0.1 M, pH 8,2). The last added chemical was obtained by dissolving 40 mg of DTNB in 10.0 mL of methanol. The final concentration of DTNB was 10.0 mM.

As calibrator solution was used 2-mercaptoethanol (16 μL of 2-mercaptoethanol in 20 mL of distilled H_2O) with final concentration of 10,0 mM. The half value of the difference between total and native-thiols amounts gave the disulphide bond amount. The measurements were performed using *Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Microplate Reader* (BioTek Instruments, USA).

Statistical analysis was performed using GraphPad 8.0 (*GraphPad Prism Software, v.8, San Diego, CA*); WINSTAT (*R.Fitch Software*). Mann-Whitney U test (comparison between groups) and Spearman (r_s) correlation test were used. The statistical values were presented as mean with standard deviation ($M \pm SD$). The p -values equal or less than 0,05 were considered statistically significant.

The blood used in the research was donated by six healthy participants, aged 28 to 38 years. All participants gave both, oral and written informed consent according to the World Medical Association Helsinki Declaration of Ethical principles for medical research involving human subjects.

These experiments were approved by the Research Ethics Committee of the "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy (certificate nr. 81 of 19.09.2020).

Results

The influence of *Taraxacum officinale* roots extracts (TOR) on RBC's thiols content

The amount of native-SH ($\mu\text{M/g Hb}$) changed as: 10% $-3,21 \pm 0,11$, 20% $-3,58 \pm 0,08$, 25% $-2,88 \pm 0,04$, 40% $-2,91 \pm 0,06$, 50% $-3,18 \pm 0,07$ and in 80% $-3,08 \pm 0,03$. The level of the same type of thiols in RBS was $3,23 \pm 0,23$ under the influence of TO roots extracted with DMSO (Table 1). In case of ethanolic extracts, the native-SH amount was statistically significant, negative, moderate correlated with the alcohol concentration ($r_s = -0,48$, $p = 0,04$).

The total-SH amount was also in different extractants. In ethanolic extracts it changed as follow: in alcohol of 10% $-3,36 \pm 0,13$, 20% $-3,72 \pm 0,11$, 25% $-3,19 \pm 0,12$, 40% $-3,01 \pm 0,01$, 50% $-3,38 \pm 0,17$ and in 80% $-3,24 \pm 0,07$. In case of

Tablelul 1. Influența diferitor extracte din rădăcinile TO asupra conținutului de tioli în eritrocite.**Table 1.** Influence of different roots extracts of TO on thiols content in RBC's.

Extract <i>Extract</i>	Tipul de tioli <i>Type of thiols</i>	Conținutul tiolilor ($\mu\text{M/g Hb}$) <i>Thiols content ($\mu\text{M/g Hb}$)</i>		TO vs control (%) <i>TO vs control (%)</i>	<i>p</i>
		Control <i>Control</i>	TO		
RDMSO	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,58 \pm 0,33	3,23 \pm 0,23	-9,7	0,15
RDMSO	SH-total <i>Total-SH</i>	3,77 \pm 0,29	3,53 \pm 0,18	-6,2	0,15
REtOH10	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,55 \pm 0,04	3,21 \pm 0,11	-9,6	0,05
REtOH10	SH-total <i>Total-SH</i>	4,37 \pm 0,54	3,36 \pm 0,13	-23,1	0,05
REtOH20	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,95 \pm 0,08	3,58 \pm 0,08	-9,3	0,05
REtOH20	SH-total <i>Total-SH</i>	4,27 \pm 0,13	3,72 \pm 0,11	-12,9	0,05
REtOH25	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,64 \pm 0,02	2,88 \pm 0,04	-21,1	0,05
REtOH25	SH-total <i>Total-SH</i>	4,17 \pm 0,36	3,19 \pm 0,12	-23,4	0,05
REtOH40	SH-libere <i>Native-SH</i>	2,95 \pm 0,05	2,91 \pm 0,06	-1,1	0,51
REtOH40	SH-total <i>Total-SH</i>	3,08 \pm 0,05	3,01 \pm 0,01	-2,2	0,05
REtOH50	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,85 \pm 0,10	3,18 \pm 0,07	-17,5	0,05
REtOH50	SH-total <i>Total-SH</i>	4,22 \pm 0,04	3,38 \pm 0,17	-19,7	0,05
REtOH80	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,05 \pm 0,04	3,08 \pm 0,03	+1,1	0,28
REtOH80	SH-total <i>Total-SH</i>	3,43 \pm 0,09	3,24 \pm 0,07	-5,4	0,05

Notă: RDMSO – extract din rădăcini în DMSO; REtOH – extract din rădăcini în etanol de concentrații diferite (10-80%). Rezultatele reprezintă medii și deviațiile standard ($M\pm SD$), testul Mann-Whitney U (grupul de control vs grupurile experimentale), precum și diferențele în procente. Testul statistic aplicat: Mann-Whitney U-test.

Note: RDMSO – roots extract in DMSO; REtOH – roots extract in ethanol of different concentration (10-80%). Results are represented by mean and standard deviation ($M\pm SD$), Mann-Whitney U test (control vs experimental groups) as well differences in percentage. Applied statistical test: Mann-Whitney U-test.

20% – 3,72 \pm 0,11, 25% – 3,19 \pm 0,12, 40% – 3,01 \pm 0,01, 50% – 3,38 \pm 0,17 și în 80% – 3,24 \pm 0,07. În cazul rădăcinilor extrase pe bază de DMSO nivelul total de tioli a fost estimat ca 3,53 \pm 0,18 ($\mu\text{M/g Hb}$). Ca și în cazul precedent, cantitatea de SH-total a înregistrat o corelație statistic semnificativă, negativă, moderată cu concentrația alcoolului ($r_s = -0,55$, $p = 0,02$).

În toate cazurile cu excepția unuia, extractele de TO au diminuat nivelul tiolilor liberi și totali, comparativ cu controlul. Unica excepție, extractul realizat în etanol de 80%, a crescut nivelul de grupuri SH-libere, valori însă ce nu au atins pragul semnificației statistice.

Influența extractelor din frunzele de *Taraxacum officinale* (TOF) asupra conținutului de tioli eritrocitari

Conținutul de grupuri SH-libere s-a modificat sub influența extractelor TOF, cu etanol de concentrație diferită, după cum

roots extracted with DMSO total thiols level was evaluated as 3,53 \pm 0,18 $\mu\text{M/g Hb}$. As in previous case, the total-SH amount recorded a statistically significant, negative, moderate correlation with the alcohol concentration ($r_s = -0,55$, $p = 0,02$).

In all cases, except one, TO extracts decreased the level of thiols, native and total, compared to control. The single exception, extracts made in ethanol of 80%, elevated the native-SH, values which did not reach statistical significances.

The influence of *Taraxacum officinale* leaves extracts (TOL) on RBC's thiols content

The content of native-SH ($\mu\text{M/g Hb}$) in the RBC changed under the TOL influence, extracted with ethanol of different concentration, as follow: 10% – 3,20 \pm 0,23, 20% – 3,24 \pm 0,03, 25% – 3,04 \pm 0,16, 40% – 2,88 \pm 0,06, 50% – 3,05 \pm 0,09 and in 80% – 3,02 \pm 0,01. The same thiols were evaluated as 3,30 \pm 0,31

urmează: 10% – 3,20±0,23, 20% – 3,24±0,03, 25% – 3,04±0,16, 40% – 2,88±0,06, 50% – 3,05±0,09 și în 80% – 3,02±0,01. Aceiași tioli au fost evaluați cantitativ ca 3,30±0,31 după influența extractelor de frunze în DMSO (Tabelul 2). În cazul extractelor etanolice, cantitatea de grupuri SH-libere a înregistrat o corelație statistic semnificativă, negativă, moderată cu concentrația alcoolului ($r_s = -0,55$, $p = 0,02$).

Cantitatea de SH-total eritocitar a fost de asemenea diferită după influența extractelor etanolice de TOF: în alcool de 10% – 3,39±0,25, 20% – 3,47±0,05, 25% – 3,28±0,04, 40% – 3,12±0,02, 50% – 3,26±0,12 și respectiv 3,15±0,02 în extractul etanolic de 80%. În cazul extractelor din frunze pe bază de DMSO nivelul total de tioli a fost evaluat ca 3,79±0,08 ($\mu\text{M/g Hb}$). Testul de corelație a demonstrat, că nivelul total de tioli este influențat de concentrația etanolului ($r_s = -0,65$, $p = 0,004$). Analiza comparativă a pus în evidență două extracte TOF (de 25 și 40%), care au crescut conținutul de SH-total, față de celelalte extracte, care au redus conținutul de tioli liberi și totali.

under the DMSO leaves extracts influence (Table 2). In case of ethanolic extracts, the native-SH amount recorded a statistically significant, negative, moderate correlation to alcohol concentration ($r_s = -0,55$, $p = 0,02$).

The total-SH amount was also different in the RBC under the influence of TOL ethanolic extracts: in alcohol of 10% – 3,39±0,25, 20% – 3,47±0,05, 25% – 3,28±0,04, 40% – 3,12±0,02, 50% – 3,26±0,12 and 3,15±0,02 in ethanol extracts of 80%. In case of DMSO leaves extracts total thiols level was evaluated as 3,79±0,08. The correlation test demonstrated that total thiols level was influenced by ethanol concentration ($r_s = -0,65$, $p = 0,004$). The overall analyze depicted two TOL extracts (of 25 and 40%), which enhanced total-SH content, in comparison to all over, which lowed the thiols content, native and total.

TOL versus TOR action on RBC's thiols content

The results of the influence of TOL and TOR on the content of thiols in the RBC are presented in Table 3. It was determined

Tabelul 2. Influența diferitor extracte din frunze de TO asupra conținutului de tioli eritocitari.

Table 2. Influence of different leaves extracts of TO on thiols content in RBC's.

Extract Extract	Tipul de tioli Type of thiols	Conținutul tiolilor ($\mu\text{M/g Hb}$) Thiols content ($\mu\text{M/g Hb}$)		TO vs control (%) TO vs control (%)	p
		Control	TO		
FDMSO LDMSO	SH-libere Native-SH	3,85±0,10	3,30±0,31	-14,2	0,05
FDMSO LDMSO	SH-total Total-SH	4,22±0,04	3,79±0,08	-10	0,05
FEtOH10 LEtOH10	SH-libere Native-SH	3,43±0,33	3,20±0,23	-6,9	0,28
FEtOH10 LEtOH10	SH-total Total-SH	3,60±0,23	3,39±0,25	-5,9	0,51
FEtOH20 LEtOH20	SH-libere Native-SH	3,73±0,07	3,24±0,03	-13,1	0,05
FEtOH20 LEtOH20	SH-total Total-SH	3,93±0,11	3,47±0,05	-11,8	0,05
FEtOH25 LEtOH25	SH-libere Native-SH	2,95±0,05	3,04±0,16	+3,3	0,51
FEtOH25 LEtOH25	SH-total Total-SH	3,08±0,05	3,28±0,04	+6,3	0,05
FEtOH40 LEtOH40	SH-libere Native-SH	2,92±0,03	2,88±0,06	-1,4	0,28
FEtOH40 LEtOH40	SH-total Total-SH	3,05±0,06	3,12±0,02	+2,6	0,05
FEtOH50 LEtOH50	SH-libere Native-SH	3,05±0,04	3,05±0,09	+0,2	0,83
FEtOH50 LEtOH50	SH-total Total-SH	3,43±0,09	3,26±0,12	-4,9	0,13
FEtOH80 LEtOH80	SH-libere Native-SH	3,23±0,13	3,02±0,01	-6,7	0,05
FEtOH80 LEtOH80	SH-total Total-SH	3,48±0,13	3,15±0,02	-9,5	0,05

Notă: FDMSO – extract din frunze în DMSO; FEtOH – extract din frunze în etanol de concentrații diferite (10-80%). Rezultatele sunt reprezentate prin medii și deviații standard ($M \pm SD$), testul Mann-Whitney U (controlul vs grupurile experimentale), precum și diferența în procente.

Note: LDMSO – leaves extract in DMSO; LEtOH – leaves extract in ethanol of different concentration (10-80%). Results are represented by mean and standard deviation ($M \pm SD$), Mann-Whitney U test (control vs experimental groups) as well differences in percentage.

Tabelul 3. Compararea conținutului de tioli eritrocitari după acțiunea extractelor din frunze și rădăcini de TO.
Table 3. The comparison of thiols content in the RBC after leaves and roots TO extracts actions.

Extractantul <i>Extractant</i>	Tipul de tioli <i>Type of thiols</i>	Media conținutului de tioli ($\mu\text{M/g Hb}$) <i>Mean of thiols content ($\mu\text{M/g Hb}$)</i>		Diferența dintre frunze și rădăcini <i>The difference between leaves and roots</i>		P
		Frunze <i>Leaves</i>	Rădăcini <i>Roots</i>	Mediile frunze minus rădăcini ($\mu\text{M/g.Hb}$) <i>Leaves minus roots means ($\mu\text{M/g.Hb}$)</i>	Frunze (F) vs Rădăcini (R) <i>Leaves (L) vs Roots (R)</i>	
DMSO	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,3	3,23	0,07	F>R L>R	0,51
DMSO	SH-total <i>Total-SH</i>	3,79	3,53	0,26	F>R L>R	0,13
EtOH10	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,2	3,21	-0,01	F<R L<R	0,83
EtOH10	SH-total <i>Total-SH</i>	3,39	3,36	0,03	F>R L>R	0,83
EtOH20	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,24	3,58	-0,34	F<R L<R	0,05
EtOH20	SH-total <i>Total-SH</i>	3,47	3,72	-0,25	F<R L<R	0,05
EtOH25	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,04	2,88	0,17	F>R L>R	0,13
EtOH25	SH-total <i>Total-SH</i>	3,28	3,19	0,08	F>R L>R	0,38
EtOH40	SH-libere <i>Native-SH</i>	2,88	2,91	-0,03	F<R L<R	0,51
EtOH40	SH-total <i>Total-SH</i>	3,12	3,01	0,11	F>R L>R	0,05
EtOH50	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,05	3,18	-0,12	F<R L<R	0,13
EtOH50	SH-total <i>Total-SH</i>	3,26	3,38	-0,12	F<R L<R	0,38
EtOH80	SH-libere <i>Native-SH</i>	3,02	3,08	-0,06	F<R L<R	0,05
EtOH80	SH-total <i>Total-SH</i>	3,15	3,24	-0,1	F<R L<R	0,08

Notă: extracte din frunze și rădăcini în DMSO și etanol (EtOH) de concentrații diferite (10-80%). Testul statistic aplicat: Mann-Whitney U-test.
 Note: leaves and roots extracts in DMSO and ethanol (EtOH) of different concentration (10-80%). Applied statistical test: Mann-Whitney U-test.

Acțiunea TOF versus TOR asupra conținutului de tioli eritrocitari

Rezultatele influenței TOF și TOR asupra conținutului de tioli sunt reprezentate în Tabelul 3. Acțiunea extractelor din frunze și rădăcini de TO asupra conținutului de tioli a fost una diferită, în special în cazul extractelor etanolice de 20%, 40% și 80%.

Discuții

Stresul oxidativ (SO) este un proces patologic produs prin dezechilibrul dintre producerea de radicali liberi ai oxigenului și azotului, și capacitatea unui sistem biologic de a detoxifica acești produși reactivi [5]. Mai mult decât atât, SO poate fi definit și ca dezechilibrul stării redox a unui sistem biologic (organită, celulă, țesut) cu producerea excesivă a speciilor reactive de oxigen/azot și/sau prin deficitul antioxidant endogen [6].

that TO leaves and roots extracts action on thiols content was different, especially in case of ethanolic extracts of 20%, 40% and 80%.

Discussion

Oxidative stress is a pathological process produced by the imbalance between the production of free radicals of oxygen and nitrogen and the ability of a biological system to detoxify these reactive products [5]. Moreover, oxidative stress can be defined as the disequilibrium of the redox status of the biological system (organelle, cell, tissue) with excessive production of reactive oxygen/nitrogen species and/or endogenous antioxidant deficiency [6].

Free radicals are the molecules having electrons in atomic and in molecular orbital's. These unpaired electrons are re-

Radicalii liberi sunt molecule, care au electroni în orbitalul atomic și cel molecular. Acești electron ne-pereche sunt responsabili de reactivitatea acestor substanțe chimice, cât și de interacțiunea lor rapidă cu alți compuși [7, 8]. Molecula, care este atacată de radicali își pierde electronul și la rândul său, devine un radical liber, producând reacții în lanț, care în cele din urmă deteriorează proteinele celulare, lipidele, acizii nucleici [7, 9, 10, 11].

Protecția împotriva speciilor reactive este asigurată de diferiți antioxidanți. Aceștia din urmă sunt definiți ca molecule, care au capacitatea de a preveni/sau încetini oxidarea macromoleculor, în același timp permițând radicalilor liberi să-și îndeplinească funcțiile fiziologice, fără a deteriora structurile biologice [10, 12]. La nivel de celulă, antioxidanții pot controla nivelul radicalilor liberi formând un sistem antioxidant complex, care include un număr de enzime antioxidante (superoxid dismutaza, catalaza, glutatation peroxidaza etc.) și compuși non-enzimatici (glutationul, vitamina C, vitamina E etc.) [13].

În calitate de antioxidanți pot fi definite și substanțele care oferă protecție împotriva deteriorării radicalilor liberi prin diverse mecanisme, inclusiv exercitând funcții în calitate de componente generale a sistemului tampon redox tiol/disulfidic, ca chelatori metalici, ca agenți de stingere a radicalilor, ca substrate pentru reacții specifice redox (GSH) și agenți reducători individuali specific legăturilor disulfidice din proteine (tioredoxina) [14, 15]. Compușii aromatici sau fenolici sunt componente obișnuite ale antioxidanților. Aceste substanțe au capacitatea de a dona hidrogen către radicalii liberi la diferite etape și de ai neutraliza.

Unul dintre mecanismele antioxidante esențiale al celulei este tamponul redox tiol/disulfidic. Celulele au dezvoltat o serie de mecanisme, capabile de a crește nivelul de tioli intracelular. Mediul celular redox tiol-disulfidic este definit de către tiolii proteici, tiolii cu masă moleculară mică și disulfurile acestora. În celulele mamiferilor, cea mai abundentă moleculă SH cu masă moleculară mică este glutatationul (GSH). Împreună cu disulfura/forma oxidată (GSSG), această pereche formează tamponul celular redox tiol-disulfidic [16]. În plus, trebuie de luat în considerație și o mare varietate de compuși asociați cu tiolii, cum ar fi cisteina și N-acetilcisteina, di-tiolii (acidul dihidrolipoic) și compușii „protioli”, cum ar fi L-2-oxotiazolidina-4-carboxilată.

Natura a dezvoltat o gamă impresionantă de substanțe, care în diverse combinații, ne fascinează prin beneficiile sale neașteptate pentru sănătate. O adevărată comoară a naturii, care a servit oamenilor timp de secole este *Taraxacum officinale* (TO), denumită obișnuit ca *păpădie/dandelion*.

Mecanismele prin care TO susține sănătatea sunt atribuite prezenței a multor substanțe biologice active [17]. TO prezintă diverse beneficii pentru sănătate, datorită proprietăților sale antioxidante, antiinflamatorii și antitumorale. Diferiți metaboliți ai plantei, cum ar fi lactonele sesquiterpene, triterpenoidele, flavonoidele, acizii fenolici, cumarinele și steroizii au fost descriși în componența TO [18].

În opinia lui Wirngo *et al.* (2016), proprietățile antiinflamatorii ale TO sunt mediate chimic de structura inelului care

responsabil pentru reactivitatea acestor compuși și interacțiunea lor rapidă cu alți compuși [7, 8]. Molecula care este atacată de radicali pierde electronul și devine un radical liber, producând reacții în lanț, care în cele din urmă deteriorează proteinele celulare, lipidele, acizii nucleici [7, 9, 10, 11].

Protecția împotriva speciilor reactive este asigurată de diferiți antioxidanți. Aceștia din urmă sunt definiți ca molecule, care au capacitatea de a preveni/sau încetini oxidarea macromoleculor, while allowing free radicals to perform their physiological functions without damaging biological structures [10, 12]. At the cellular level, antioxidants that control the level of free radicals form a complex antioxidant system that includes a number of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, etc.) and non-enzymatic compounds (glutathione, vitamin C, vitamin E and others) [13].

As antioxidants can be defined the substances which provide protection from free radical damaging by variety of mechanisms, including as components of the general thiol/disulfide redox buffer, as metal chelators, as radical quenchers, as substrates for specific redox reactions (GSH), and as specific reductants of individual protein disulfate bonds (thio-redoxin) [14, 15]. Aromatic compounds or phenolic rings are usual components of the antioxidants. Such substances have the ability to donate the hydrogen to the free radicals at different stages and neutralize them.

One of the essential antioxidant mechanism is the thiol/disulfide redox buffer of the cell. Cells have developed a number of mechanisms that increased intracellular thiol levels. The cellular thiol-disulfide redox environment is defined by protein thiols, low molecular weight thiols and their disulfides. In mammalian cells, the most abundant low molecular weight sulfhydryl molecule is glutathione (GSH). Together with its disulfide (GSSG), this pair forms a cellular thiol-disulfide redox buffer [16]. In addition, a wide variety of thiol-related compounds, like cysteine and N-acetylcysteine, dithiols (dihydrolipoic acid) and “prothiol” compounds such as L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate should be considered.

Nature has developed an impressive array of phytochemicals that, in various combinations, amaze us with unexpected health benefits. A true treasure of nature, which has served humans for centuries, is *Taraxacum officinale* (TO), commonly called as *dandelion*.

The health-promoting mechanisms of TO are attributed to the presence of many biological active substances [17]. TO exhibit various health benefits due to its, antioxidant, anti-inflammatory, and anticarcinogenic properties. Various plant metabolites such as sesquiterpene lactones, triterpenoids, flavonoids, phenolic acids, coumarins, and steroids have been described to be present in TO [18].

In Wirngo *et al.* (2016) opinion, the antiinflammatory properties of TO are mediated chemically by the oxygen-containing ring structure featuring a carbonyl function, an exocyclic methylene group as part of a α -methylene- γ -lactone moiety. This structure is able to react with nucleophilic components, like cysteine sulfhydryl groups, via Michael addition. Schmidt

conține oxigen în grupa funcțională carbonil, o grupă metilen exociclică ca parte a unei porțiuni α -metilen- γ -lactonă. Această structură este capabilă să reacționeze cu componentele nucleofile, cum ar fi grupele sulfhidril din cisteină, prin adiția Michael. Cercetătorii Schmidt *et al.* (2006) consideră, că grupele tiolice, cum ar fi reziduurile cisteinei din proteine reprezintă ținta primară a lactonelor sesquiterpene. Ultimele sunt considerate componente obișnuite ale TO, depistate în special în rădăcini. Datorită acestor lactone, TO exercită de asemenea proprietăți antimicrobiene, antimutagenice, funcționând perfect în calitate de modulator al creșterii și repelent [19].

Importanța lactonelor din TO a fost demonstrată recent de Jedrejek *et al.* (2019), în experimentul cărora cel mai puternic efect protector asupra grupelor tiolice (conținut crescut de trei ori mai mult comparativ cu controlul), a fost determinat în două fracții de extracte din rădăcinile de TO: îmbogățite cu derivați ai lactonei sesquiterpenice și esteri hidroxifenilacetat a inositolului [20]. Chadwick *et al.* (2013) au determinat, că lactonele sesquiterpene nu exercită acțiune antioxidantă directă, care ar fi fost atribuită datorită structurii lor, ci datorită prezenței componentelor adiționale atașate acestora, cum ar fi alcoolul alilic, care influențează activitatea acestora [21]. Și acesta reprezintă doar un exemplu, o combinație unică, iar compoziția extractelor poate fi influențată de mai multe condiții.

TO este o sursă bogată de diverse substanțe biologice active, iar combinația lor poate duce la rezultate neașteptate. Drept exemplu, servesc datele lui Jedrejek *et al.* (2019), unde două fracții îmbogățite cu lactone sesquiterpenice au exercitat acțiune protectoare în cazul oxidării lipidelor plasmaticice și proteinelor cu H_2O_2/Fe , în timp ce amestecul cu conținut sporit de acid taraxinic-O- β -D-glucozidic, a manifestat un potențial antioxidant mai slab. În plus chiar și tratarea termică a plantei poate schimba compoziția TO, care în opinia lui Wojtowicz *et al.* (2017), poate crește activitatea antioxidantă de cca cinci ori [22].

În una din publicațiile noastre anterioare, în care a fost descrisă influența extractelor din frunzele de TO asupra homeostaziei tiol/disulfidice, am menționat importanța concentrației extractantului [23]. Mai mult, corelația statistică dintre diverși marcheri ai stresului oxidativ din eritrocite sub influența extractelor etanolice de concentrații diferite a fost diferită. Prin lucrarea dată reiterăm afirmația anterioară despre importanța tipului de extractant și concentrația acestuia.

Pfingstgraf *et al.* (2021) au raportat date interesante despre influența TO în cazul insuficienței hepatice cronice, provocată experimental șobolanilor *Albino Wistar*. Autorii au observat la aceste animale o epuizare a nivelului de SH, care însă putea fi prevenită prin administrarea extractului etanolic (70%) din rădăcini de TO [24]. Mai mult, SH chiar a crescut ușor, indicând faptul că anume acest extract a redus sistemic SO prin eliminarea oxidanților și mai puțin prin creșterea capacității antioxidante [25]. Contrar acestor rezultate, datele noastre actuale indică faptul, că doar extractele etanolice de 25% și 40% din frunze pot crește statistic semnificativ nivelul de tioli. Diferența observată, poate fi datorată diferitor obiecte de studiu: serul utilizat în experimentul lui Pfingstgraf și eri-

et al. (2006) consideră că tiol groups such as cysteine protein residues are primary target group of sesquiterpene lactones. The last are considered as common components of TO, mainly in the roots. Due to these lactones, TO also exhibits antimicrobial, antimutagenic, antifeedant, growth-regulating and repellent properties [19].

Importance of TO lactones was demonstrated recently by Jedrejek *et al.* (2019), in whose experiment the strongest effect on the protection of thiol groups (more than a three-fold increase in the level of thiol groups in comparison to control) was determined in two fractions of TO roots extracts: enriched with sesquiterpene lactones derivatives and hydroxyphenylacetate inositol esters [20]. Chadwick *et al.* (2013) found that sesquiterpene lactones do not exert direct anti-oxidative action, which is attributable to their structure, but the presence of additional components attached to them, such as allyl alcohol, can affect the activity [21]. And this is just an example of single combination, but the composition of extracts is influenced by many conditions.

TO is a rich source of different biologically active substances and their combinations lead to unexpected results. As an example, in Jedrejek *et al.* (2019) experiment, two sesquiterpene lactones enriched fractions exerted protective action in plasma lipids and proteins against oxidation by H_2O_2/Fe , but preparation which contained a significant amount of taraxinic acid-O- β -D-glucoside, showed weaker anti-oxidative potential than first one, characterized by high content of sesquiterpene lactones-amino acid adducts. Plus, even thermal treatment of plant can change the TO composition, which by Wojtowicz *et al.* (2017) can enhance its antioxidant activity about five times [22].

In one of our previous report, in which was described the influence of TO leaves extracts on thiol/disulphide homeostasis, we mentioned the importance of extractant concentration [23]. Moreover, the statistical correlations between different markers of oxidative stress in RBC under influence of ethanol extracts of different concentrations were different. Now we confirm the previous statement, about the importance of the type of extractant and its concentration, the problem of this study, having been supplemented by an assessment of the importance of the plant part.

Pfingstgraf *et al.* (2021) reported data about influence of TO in experimental acute chronic liver failure, in *Albino Wistar* rats. Authors observed a depletion in the level of SH which was prevented by administration of ethanolic (70%) root extract of TO [24]. Moreover, SH even slightly increased, indicating that this extract reduced systemic oxidative stress mainly by scavenging the oxidants and less by increasing the antioxidant capacity [25]. Contrary to his results, our present data indicate that only leaves ethanolic extracts of 25% and 40% could increase statistically significant the level of thiols. The difference noted maybe due to various objects of study, serum in the Pfingstgraf's experiment and erythrocytes in ours, facts that should be discussed later.

Recently, Majewski *et al.* (2020) tested two TO phenolic fractions-from leaves and petals. Both extracts have protective

trocitele în cazul nostru, cauză, care ar trebui revizuită și supusă discuției ulterioare.

Recent, Majewski *et al.* (2020) au testat două fracții fenolice de TO, extrase din frunze și petale. Ambele extracte au prezentat efecte protectoare în plasma sanguină, măsurate prin biomarkeri ai SO: scăderea efectivă a nivelului de grupe carbonil în proteine (fracția din frunze) și creșterea conținutului de grupe tiolice în proteine (fracția din petale). Cantitatea grupelor de tioli din plasma sanguină a crescut de 1,34 ori în cazul extractului din frunze și de 1,53 în cazul extractului din petale, comparativ cu martorul [26]. Aceste rezultate consolidează noțiunea de rol benefic al TO, ca agent protector împotriva deteriorării oxidative a proteinelor. Astfel de date, corespund rezultatelor raportate anterioare de Jedrejek *et al.* în 2017 [27]. Toate probele testate, patru fracții fenolice diferite din frunze și petale de TO au inhibat carbonilarea proteinelor plasmatică și oxidarea grupelor tiolice în proteinele plasmatică de către oxidanți (H_2O_2 și $OH\cdot$). Autorii au decis, că petalele de TO sunt o sursă mai bogată în flavonoide decât frunzele.

TO este bogat în compuși fenolici, caracterizați prin proprietăți antioxidante marcate. Această plantă conține polifenoli, flavonoizii β -sitosterolkaempferolul și quercetina, care au grupe hidroxil. Ultimul, donează cu ușurință e^- radicalilor liberi și efectiv îi neutralizează. Prezența unei grupe hidroxil în TO crește potențialul antioxidant prin legarea intermoleculară a legăturii de hidrogen, implicând grupa $-SH$ de tioli non-proteici și enzimele [28].

Potrivit lui Lis *et al.* (2020) componentele bioactive ale TO influențează conținutul de tioli în diferite moduri [29]. Extractele îmbogățite cu acizi cinamici (448 mg GAE/g) și flavonoizi (377 mg GAE/g), precum și trei fracții de flavonoizi (fracția cu filonotisflavon, 516 mg GAE/g; fracția cu flavonolignani, 384 mg GAE/g și agliconul fracției flavon, 632 mg GAE/g) au redus oxidarea grupei tiolice din proteinele plasmatică tratate cu H_2O_2/Fe . Cea mai scăzută activitate a fost determinată în cazul extractului metanolic din fructe, îmbogățit cu polifenoli (188 mg GAE/g) și fracția cu flavonoizi îmbogățită cu luteolină (880 mg GAE/g). Autorii au menționat, că dozarea componentelor bioactive este de asemenea importantă în SO. Drept exemplu, funcția tiolilor proteici la oxidarea trombocitelor indusă cu H_2O_2/Fe , s-a ameliorat prin administrarea fracției de filonotisflavonă (516 mg GAE/g, 10 $\mu g/mL$) și prin administrarea de extract de flavonoide (377 mg GAE/g), și fracția îmbogățită cu luteolină (880 mg GAE/g), a câte 50 $\mu g/mL$ fiecare. În cazul tiolilor plasmatici autorii au subliniat importanța materialului biologic utilizat în experimentele cu TO [29].

Concluzii

Studiile noastre anterioare și actuale demonstrează, că frunzele și rădăcinile din *Taraxacum officinale* sunt o sursă valoroasă de diverse substanțe biologice active, implicate în diferite mecanisme biochimice, inclusiv protecția antioxidantă. Extractele din TO influențează asupra nivelului tiolic eritrocitar, care este dependent de tipul extractantului și concentrația acestuia. În general, influența TO ține de micșorarea nivelului de tioli, mecanism care depinde probabil de conținutul for-

effects in the blood plasma, as measured by biomarkers of oxidative stress: effectively decreased protein carbonylation level (leaf fraction) and increased content of protein thiol groups (petal fraction). The number of thiol groups in blood plasma, increased comparative to the control group 1,34-fold in case of leaf extract and 1,53-fold in case of petals [26]. These results strengthen the notion of a beneficial role of TO as a protective agent against oxidative damage to proteins. Such data corresponds to previously reported results of Jedrejek *et al.* in 2017 [27]. All tested samples, four different phenolic fractions from TO leaves and petals inhibited plasma protein carbonylation and oxidation of thiol groups in plasma proteins stimulated by oxidants (H_2O_2 and $OH\cdot$). Authors decided that petals of TO are better source of flavonoids than leaves. Also TO is rich in phenolic compounds, characterized by strong antioxidant properties. TO contains polyphenols, flavonoids β -sitosterolkaempferol and quercetin which have hydroxyl groups. The last, easily donates e^- to free radicals and effectively neutralizes them. The presence of a hydroxyl group rises TO antioxidant potential through inter molecular hydrogen bonding, involving the $-SH$ group of non-protein thiols and enzymes [28].

According to Lis *et al.* (2020) bioactive components of TO influence thiols content in different ways [29]. Cinnamic acids (448 mg GAE/g) and flavonoids (377 mg GAE/g) enriched extracts, as well three flavonoids fractions (philonotisflavone fraction, 516 mg GAE/g; flavonolignans fraction, 384 mg GAE/g and flavone aglycones fraction, 632 mg GAE/g) reduced protein thiol group oxidation in plasma treated with H_2O_2/Fe . Lowest activity was determined in case of methanolic extract of fruits, enriched with polyphenols (188 mg gallic acid equivalents (GAE)/g and flavonoid fraction enriched with luteolin (880 mg GAE/g). Authors mentioned that dosage of bioactive components able to ameliorate oxidative stress is different too. As example, H_2O_2/Fe -induced oxidation of platelets protein thiol functions was ameliorated by preparations of philonotisflavone fraction (516 mg GAE/g) at 10 $\mu g/mL$, and by flavonoids extracts (377 mg GAE/g), as well luteolin fraction (880 mg GAE/g) at 50 $\mu g/mL$. In case of plasma thiols authors pointed the importance of biological material [29].

Conclusions

Our previous and present studies demonstrate that *Taraxacum officinale* leaves and roots are a valuable source of different classes of biologically active substances, involved in biochemical mechanisms, antioxidant protection. TO extracts influence on RBC's thiols level depends of type of extractant and its concentration. The overall influence of TO be to decrease the thiols level, mechanism which probably depends of their reduced and oxidized forms level in experimental samples, as well of various concentrations and combinations of biologically active substances in different types of extracts. However, the mechanism of its antioxidant activity remains unclear and requires further studies.

melor redusă și oxidată din probele experimentale, precum și de concentrațiile, combinațiile substanțelor biologice active în diferite tipuri de extracte. Cu toate acestea mecanismul activității sale antioxidante rămâne neclar și necesită studii suplimentare.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa oricăror conflicte financiare sau nefinanciare.

Contribuția autorilor

VG, OT și MT au elaborat ipoteza, designul studiului și au avut o contribuție intelectuală semnificativă în interpretarea datelor și în discuția rezultatelor. AF a adunat materialul primar, a efectuat analiza statistică, a scris draft-ul studiului. Toți autorii au citit și au aprobat versiunea finală a manuscrisului.

Referințe / references

1. Aremu O., Oyedeji A., Oyedeji O., Nkeh-Chungag B., Rusike C. In vitro and in vivo antioxidant properties of *Taraxacum officinale* in *N* ω-Nitro-L-Arginine methyl ester (L-NAME)-induced hypertensive rats. *Antioxidants (Basel)*, 2019; 8 (8):309.
2. Mišek M., Marcinčáková D., Legáth J., Polyphenols content, antioxidant activity, and cytotoxicity assessment of *Taraxacum officinale* extracts prepared through the micelle-mediated extraction method. *Molecules*, 2019; 24 (6):1025.
3. Lis B., Olas B. Pro-health activity of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) and its food products – history and present. *J Funct Foods*, 2019; 59:40–8.
4. Erel O., Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem*, 2014; 47 (18):326–32.
5. Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*, 2017; 8416763.
6. Marrocco I., Altieri F., Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev*, 2017; 6501046.
7. Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*, 2015; 30 (1): p. 11-26.
8. Lü J.M., Lin P.H., Yao Q., Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*, 2010; 14 (4): p. 840-860.
9. Rodríguez-Lara S.Q., Cardona-Muñoz E.G., Ramírez-Lizardo E.J., Totsuka-Sutto S.E., Castillo-Romero A., et al. Alternative interventions to prevent oxidative damage following ischemia/reperfusion. *Oxid Med Cell Longev*, 2016:7190943.
10. Adwas A.A., Elsayed A.S.I., Azab A.E., Quwaydir F.A. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng*, 2019; 6 (1): p. 43-47.
11. Hussain T., Tan B., Yin Y., Blachier F., Tossou M.C., Rahu N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? *Oxid Med Cell Longev*, 2016; 2016:7432797.
12. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *J Neurochem*, 2006; 97 (6): p. 1634-1658
13. Ishfaq S., Sabir S.M., Khurshid H., Zaman T., Ahmad Z. Antioxidant activities and inhibitory effect of *Taraxacum officinale*, *Cichorium intybus* and *Lactuca sativa* on prooxidant induced lipid peroxidation in mice liver. *Croat J Food Sci Technol*, 2018; 10 (1):16-22.
14. Deneke S.M. Thiol-based antioxidants. *Curr Top Cell Regul*, 2000;36:151-80.
15. Padmanabhan P., Jangle S.N. Evaluation of dpph radical scavenging activity and reducing power of four selected medicinal plants and their combinations. *Int J Pharm Sci Drug Res*, 2012; 143-6.
16. Hansen R.E., Otsu M., Braakman I., Winther J. Quantifying changes in the cellular thiol-disulfide status during differentiation of B cells into antibody-secreting plasma cells. *Int J Cell Biol*, 2013:e898563.
17. Schütz K., Carle R., Schieber A. *Taraxacum* – a review on its phytochemical and pharmacological profile. *J Ethnopharmacol*, 2006; 107 (3):313-23.
18. Esatbeyoglu T., Obermair B., Dorn T., Siems K., Rimbach G., Birringer M. Sesquiterpene lactone composition and cellular Nrf2 induction of *Taraxacum officinale* leaves and roots and taraxinic acid β-d-glucopyranosyl ester. *J Med Food*, 2017; 20(1):71-8.
19. Kisiel W., Barszcz B. Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia*, 2000; 71 (3):269-73.
20. Jedrejek D., Lis B., Rolnik A., Stochmal A., Olas B. Comparative phytochemical, cytotoxicity, antioxidant and haemostatic studies of *Taraxacum officinale* root preparations. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*, 2019; 126:233-47.
21. Chadwick M., Trewin H., Gawthrop F., Wagstaff C. Sesquiterpenoids lactones: benefits to plants and people. *Int J Mol Sci*, 2013; 14 (6):12780-805.
22. Wojtowicz E., Krupska A., Zawirska-Wojtasiak R. Antioxidant activity and free radicals of roasted herbal materials. *Herba Pol*, 2017; 63 (2):34-41.
23. Fulga A., Pantea V., Andronache L., Tagadiuc O., Todiras M., Gudumac V. Antioxidant activity of taraxacum officinale. *InterConf*, 2021; 264-80.
24. Pflingstgraf I.O., Taulescu M., Pop R.M., Orăsan R., Vlase L., Uifalean A. et al. Protective effects of *Taraxacum officinale* L. (Dandelion) root extract in experimental acute on chronic liver failure. *Antioxidants*, 2021;10 (4):504.
25. Pflingstgraf I., Taulescu M., Or R., Pop R.M., Vlase L., Toma C. et al. Effect of *Taraxacum officinale* l. (dandelion) root extract in experimental chronic liver failure. *Rev Rom Med Vet*, 2020; 30 (4):85-91.
26. Majewski M., Lis B., Juśkiewicz J., Ognik K., Borkowska-Sztachańska M., Jedrejek D. et al. Phenolic fractions from dandelion leaves and petals as modulators of the antioxidant status and lipid profile in an in vivo study. *Antioxid Basel Switz*, 2020; 9 (2):E131.
27. Jedrejek D., Kontek B., Lis B., Stochmal A., Olas B. Evaluation of antioxidant activity of phenolic fractions from the leaves and petals of dandelion in human plasma treated with H₂O₂ and H₂O₂/Fe. *Chem Biol Interact*, 2017; 262:29-37.
28. Hassan H., El-Kholy W., Galal N. Comparative protective effect of moringa and dandelion extracts against hepatic disorders and oxidative stress associated with prolonged use of brufen drug in rats. *Egypt J Hosp Med*, 2015; 60:336-46.
29. Lis B., Jedrejek D., Rywaniak J., Soluch A., Stochmal A., Olas B. Flavonoid preparations from *Taraxacum officinale* L. fruits – a phytochemical, antioxidant and hemostasis studies. *Molecules*, 2020; 25 (22).