



ARTICOL DE CERCETARE

Valorificarea speciilor din colecția Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Maria Cojocaru-Toma^{1,3}, Cristina Ciobanu^{2,3},
Anna Benea^{1,3}, Nicolae Ciobanu^{2,3}

¹Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Catedra de tehnologie a medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

³Centrul Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 01.11.2020

Data acceptării spre publicare: 05.12.2020

Autor corespondent:

Maria Cojocaru-Toma, dr. șt. farm., conf. univ.

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: maria.cojocaru@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Valorization of species from the collection of the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants of the Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

Maria Cojocaru-Toma^{1,3}, Cristina Ciobanu^{2,3},
Anna Benea^{1,3}, Nicolae Ciobanu^{2,3}

¹Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Chair of drug technology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Scientific-Practical Center in the Field of Medicinal Plants, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 01.11.2020

Accepted for publication on: 05.12.2020

Corresponding author:

Maria Cojocaru-Toma, PhD, assoc. prof.

Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare si Sfânt ave, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: maria.cojocaru@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Conform datelor din literatură, doar 20% din flora mondială este cercetată științific. Cercetarea plantelor din colecții și flora spontană a Republicii Moldova reprezintă un vast tărâm pentru cunoaștere.

Ipoteza de cercetare

Valorificarea plantelor medicinale din colecția Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale (CȘPDPM) a USMF „Nicolae Testemițanu” prin prisma compușilor chimici și acțiunii farmacologice, ca potențiale surse de produse vegetale și principii active pentru elaborarea de produse noi fitoterapeutice.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Pentru prima dată în Republica Moldova a fost evaluată colecția de plante din CȘPDPM, au fost analizate biologic, fitochimic și determinată activitatea farmacologică a speciilor introduse în cultura Centrului: *Agrimonia eupatoria* L., *Cichorium intybus* L., *Centaurea cyanus* L., *Cynara scolymus* L. și *Hypericum perforatum* L.

What is not known yet, about the topic?

According to literature, only 20% of the world's flora is scientifically researched. The research of the plants from the collections and the spontaneous flora of the Republic of Moldova represents a vast realm for knowledge.

Research hypothesis

Valorization of medicinal plants from the collection of the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants (SPCFMP) of Nicolae Testemitanu SUMPh in terms of chemical compounds and pharmacological action, as potential sources of vegetal products and active principles for the elaboration of new phytotherapeutic products.

Article's added novelty on this scientific topic

For the first time in the Republic of Moldova, was evaluated the collection of plants from the SPCFMP, were analyzed biologically, phytochemically and determined the pharmacological activity of the species introduced in the Center's culture: *Agrimonia eupatoria* L., *Cichorium intybus* L., *Centaurea cyanus* L., *Cynara scolymus* L. and *Hypericum perforatum* L.

Rezumat

Introducere. Centrul Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale (CȘPDPM) a fost fondat în anul 2002 pe un teritoriu de 4,74 ha lângă comuna Bardar, Ialoveni. Pe parcursul anilor, colecția de plante medicinale, s-a extins semnificativ și în prezent include cca 200 taxoni. Managementul universității a creat posibilități de studii biologice, fitochimice, farmaceutice și agrotehnice ale plantelor medicinale autohtone și alohtone cultivate în colecția Centrului. Un subiect de interes științific deosebit se referă la studierea corelației dintre conținutul principiilor active și acțiunea farmacologică a produselor vegetale.

Material și metode. În calitate de materiale au servit plantele medicinale cultivate în colecția CȘPDPM. Cercetarea a fost axată pe evaluarea plantelor medicinale și produselor vegetale după principii active și acțiuni farmacologice în baza surselor bibliografice, prezentarea rezultatelor analizelor fitochimice și biologice, cât și a metodologiilor de cercetare utilizate.

Rezultate. A fost efectuat studiul analitico-descriptiv al colecției prin evaluarea și repartizarea plantelor după conținutul chimic al produselor vegetale, acțiunile farmacologice, gradul de vulnerabilitate și toxicitate. Astfel, colecția include un număr semnificativ de plante cu conținut de ulei volatil, urmat de compuși fenolici, flavonoide, taninuri, alcaloii etc., cu multiple utilizări precum ca agenți sedativi, antimicrobieni, carminativi, antihelmintici ș.a. Au fost elaborate metode de identificare și dozare, prin tehnici fizico-chimice spectrale și de cromatografie, inclusiv au fost studiate procedeele de optimizare a extracțiilor principiilor active, asistate de ultrasunet și macerare. A fost demonstrată acțiunea antioxidantă (metoda DPPH, ABTS și FRAP), antiinflamatoare, antimicrobiană și viabilitate celulară a extractelor etanolice standardizate din produse vegetale.

Concluzii. Prospectiv, rezultatele cercetărilor științifice ale CȘPDPM urmăresc crearea unei baze științifice de obținere a unui material ecologic, cu conținut înalt de principii active atât de necesar industriei farmaceutice din Republica Moldova

Cuvinte cheie: plante medicinale, principii active, analiza fitochimică și biologică.

Introducere

Republica Moldova deține un mediu natural bogat din punct de vedere al diversității peisajelor, întinse pe trei ecoregiuni principale ale Europei – pădurile mixte central-europene, stepa pontică și silvostepa est-europeană. Flora țării numără cca 1550 de specii din 550 de genuri și 101 de familii. Strategia cea mai importantă de conservare a biodiversității naturii și de utilizare durabilă a resurselor vegetale, se axează pe constituirea ecosistemelor naturale protejate. Primele încercări în domeniul ocrotirii vegetației din R. Moldova s-au întreprins în secolul XIX. Menționăm că din 1550 de specii de plante, 46 sunt incluse în Cartea Roșie a R. Moldova, ediția a III (2015), iar 224 sunt protejate de stat [1].

Abstract

Introduction. The Scientific-Practical Center of Medicinal Plants (SPCFMP) has been founded in 2002 on a territory of 4.74 ha, near the commune of Bardar, Ialoveni. Over the years, the collection of medicinal plants has expanded significantly and now includes about 200 taxa. The university management has created possibilities for biological, phytochemical, pharmaceutical and agrotechnical studies of local and non-native medicinal plants grown in the Centre's collection. A topic of special scientific interest refers to the study of the correlation between the content of active principles and the pharmacological action of vegetal products.

Material and methods. Medicinal plants grown in the collection of SPCFMP served as materials. The research had been focused on the evaluation of medicinal plants and vegetal products according to active principles and pharmacological actions based on bibliographic sources, the presentation of the results of phytochemical and biological analysis with the used research methodologies as well.

Results. The analytical-descriptive study of the collection was performed by evaluating and distributing the plants according to the chemical content of the vegetal products, the pharmacological actions, the degree of vulnerability and toxicity. Thus, the collection includes a significant number of plants with volatile oil content, followed by phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, etc., with multiple uses such as sedatives, antimicrobials, carminatives, anthelmintics, etc. Identification and dosing methods were developed, through spectral physico-chemical and chromatography techniques, including the procedures for optimizing the extraction of active principles, assisted by ultrasound and maceration. Has been demonstrated the antioxidant action (DPPH, ABTS and FRAP method), anti-inflammatory, antimicrobial action and viability cells of standardized ethanolic extracts from vegetal products.

Conclusions. Prospectively, the results of the scientific research of the SPCFMP aim at creating a scientific basis for obtaining an ecological material, with a high content of active principles so necessary for the pharmaceutical industry in the Republic of Moldova.

Key words: medicinal plants, active principles, phytochemical and biological analysis.

Introduction

The Republic of Moldova has a rich natural environment in terms of landscape diversity, spread over three main ecoregions of Europe – central European mixed forests, pontic steppe and eastern European forest-steppe. The country's flora has about 1550 species from 550 genus and 101 families. The most important strategy for conserving nature's biodiversity and sustainable use of plant resources is focused on building protected natural ecosystems. The first attempts in the field of vegetation protection in the Republic of Moldova were undertaken in the 19th century. Out of 1550 plant species, 46 are included in the Red Book of the Republic of Moldova, III edition (2015), and 224 are protected by the state [1].

Un ecosistem natural prezintă și colecția de plante din cadrul Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale (CȘPDPM) a USMF „Nicolae Testemițanu”. Fondat în anul 2002, actualmente ocupă o suprafață totală de 13 ha, situat la 4 km nord-est de comuna Bardar, r-nul Ialoveni. Pe acest teren a fost creată o colecție de plante medicinale care în prezent numără cca 200 taxoni de plante din 14 grupe de principii active cu diverse acțiuni farmacoterapeutice [2]. În colecția Centrului sunt și plante medicinale cu risc de vulnerabilitate și grad de dispariție, identificate în urma evaluării speciilor din Cartea Roșie, în conformitate cu Lista Roșie a Uniunii Internaționale a Conservării Naturii, conform grupelor:

- *specii vulnerabile*: care se consideră că în timpul apropiat vor trece în categoria speciilor pereclitate, dacă factorii cauzali vor continua să afecteze starea speciilor; în colecția CȘPDPM sunt introduse: *Ephedra distachya* L., fam. Ephedraceae și *Scopolia carnioloca* Jacq, fam. Solanaceae;
- *specii periclitare*: plante în pericol de exterminare, a cărei supravețuire este improbabilă dacă factorii cauzali continuă să influențeze starea ei; aici se clasează *Padus avium* Mill., fam. Rosaceae;
- *specii critic periclitare*: cele amenințate cu dispariția în viitorul apropiat din habitatele naturale, cum ar fi degetul-lânos (*Digitalis lanata* Ehrn.), fam. Scrofulariaceae, lăcrămioara (*Convallaria majalis* L.), fam. Asparagaceae, cu restricții la recoltarea produselor vegetale [3].

Principalele direcții de cercetare ale Centrului constau în studiul biologic al plantelor medicinale din flora spontană și cea cultivată a R. Moldova; cercetări fitochimice ale plantelor medicinale din colecția Centrului; lucrări de introducere în cultură a plantelor medicinale din flora spontană autohtonă și din alte regiuni floristice; studiul condițiilor de creștere și elaborarea tehnologiilor de cultivare a plantelor medicinale; lucrări de creare a unei baze științifice de producere a materialului semincer și săditor de plante medicinale [2].

Aici sunt organizate și efectuate cercetări științifice în bază de proiecte instituționale finanțate din bugetul de stat, precum și cercetări de inițiativă la nivel de lucrări de licență a studenților, rezidenților și doctoranzilor. În același timp la Centru se petrece practica didactică a studenților Facultății de Farmacie la disciplinele „Botanica farmaceutică” și „Farmacognozie” și a specialiștilor în cadrul ciclurilor de perfecționare în domeniul Fitoterapiei a Facultății de Educare continuă în medicină și farmacie a USMF „Nicolae Testemițanu”.

În această lucrare propunem un studiu bazat pe cercetările farmacognostice, fitochimice și farmacologice a plantelor medicinale cultivate în colecție în vederea reactualizării concepțiilor fitoterapiei holistice materializate prin rezultate științifice.

Material și metode

Cercetările privind introducerea în cultură a plantelor medicinale din flora spontană autohtonă și din alte regiuni floristice, includ stabilirea parametrilor optimi de cultivare cu

The collection of plants from the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants (SPCFMP) of *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy presents also a natural ecosystem. Founded in 2002, it currently occupies a total area of 13 ha, situated 4 km north-east from Bardar commune, Ialoveni district. A collection of medicinal plants has been created on this land, which currently counts about 200 plant taxa from 14 groups of active principles with various pharmacotherapeutic actions [2]. The SPCFMP collection also includes medicinal plants at risk of vulnerability and extinction, identified following the evaluation of the species from the Red Book, in accordance with the Red List of the International Union for Conservation of Nature, according to the groups:

- *vulnerable species*: which are considered soon to pass into the category of endangered species, if the causal factors continue to affect the status of the species; in the SPCFMP collection are introduced: *Ephedra distachya* L., fam. Ephedraceae and *Scopolia carnioloca* Jacq, fam. Solanaceae;
- *endangered species*: plants in danger of extinction, the survival of which is unlikely if the causal factors continue to influence its condition; *Padus avium* Mill, fam. Rosaceae;
- *critically endangered species*: those threatened with extinction in the near future from natural habitats, such as the Woolly foxglove (*Digitalis lanata* Ehrn.), fam. Scrofulariaceae, Lily of the valley (*Convallaria majalis* L.), fam. Asparagaceae, with restrictions on harvesting plant products [3].

The main research directions of SPCFMP consist in the biological study of medicinal plants from the spontaneous and cultivated flora of the Republic of Moldova; phytochemical researches of medicinal plants from the Centre's collection; works of introduction into culture of medicinal plants from the native spontaneous flora and from other floristic regions; study of growing conditions and elaboration of technologies for cultivation of medicinal plants; works to create a scientific basis for the production of seed and seedlings of medicinal plants [2].

Here are organized and conducted scientific researches based on institutional projects funded by the state budget, as well as initiative research at the level of undergraduate work of students, residents and doctoral students. At the same time, here takes place the teaching practice of the students of the Faculty of Pharmacy in the disciplines “Pharmaceutical botany” and “Pharmacognosy” and of the specialists within the training cycles in the field of Phytotherapy of the Faculty of Continuing Education in Medicine and Pharmacy of *Nicolae Testemitanu* SUMPh.

In this writing we propose a study based on the pharmacognostical, phytochemical and pharmacological research of medicinal plants grown in the SPCFMP collection in order to update the concepts of holistic phytotherapy materialized by scientific results.

Material and methods

Researches on the introduction into culture of medicinal plants from native spontaneous flora and other floristic regions, includes establishing optimal cultivation parameters

identificarea factorilor de mediu ce influențează asupra procesului de creștere și dezvoltare a speciilor, cum ar fi: condițiile edafice și orografice, termenii de prelucrare a solului, regimul hidric, termenii de semănat, densitatea plantelor pe unitatea de suprafață, urmate de determinări biometrice și analize morfo-anatomice a plantelor medicinale și produsele vegetale prin studiu farmacognostic.

Analiza fitochimică se efectuează cu scopul identificării profilului de compuși bioactivi și a dinamicii acumulării principiilor active în funcție de stadiul de dezvoltare și de tipul de țesut. În cadrul cercetărilor se aplică diferite metode spectrale și cromatografice, folosind dispozitive performante pentru identificare și separare de compuși, precum cromatografia pe strat subțire (CSS) și cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC-UV/MS sau HPLC-MS/MS) și respectiv spectrofotometria UV-VIS. Studiul activității biologice și farmacologice ale plantelor include cercetarea potențialului antioxidant, antimicrobian și antiinflamator realizate *in vitro* și *in vivo*.

În cadrul colaborărilor cu Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, Catedra de tehnologie a medicamentelor, Catedra de microbiologie, virusologie și imunologie, Laboratorul de infecții intraspitalicești, Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare, Centrul Științific al Medicamentului a USMF „Nicolae Testemițanu” se execută studii fitochimice, de optimizare a metodelor de extracție și studii biologice.

Rezultate

Plantele medicinale din colecția Centrului au fost evaluate după componența principiilor active (Figura 1), astfel ponderea cea mai înaltă este atribuită uleiurilor volatile (29%), constituite din amestecuri multiple de hidrocarburi alifatic, aromatice și hidroaromatice ce aparțin clasei terpenoidelor; alcaloizilor le este atribuit locul 2 în clasament (14%), urmați de substanțe tanante (12%), substanțe amare (12%) și flavo-

with identification of environmental factors that influence the process of growth and development of species, such as: edaphic and orographic conditions, soil processing terms, water regime, sowing terms, plant density per unit area, followed by biometric determinations and morpho-anatomical analyzes of medicinal plants and vegetal products by pharmacognostical study.

Phytochemical analysis is performed in order to identify the profile of bioactive compounds and the dynamics of the accumulation of the active principles depending on the stage of development and the type of tissue. Various spectral and chromatographic methods are used in the research, using high-performance devices for the identification and separation of compounds, such as thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC-UV / MS or HPLC-MS / MS) and respectively UV-VIS spectrophotometry.

The study of the biological and pharmacological activity of plants includes researching the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential performed *in vitro* and *in vivo*.

Within the collaborations with the Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany, the Chair of drug technology, the Chair of microbiology, virology and immunology, the Laboratory of in-hospital infections, the Laboratory of tissue engineering and cell cultures, Scientific- Practical Center of Medicine of *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy, perform phytochemical studies, optimization of extraction methods and biological studies.

Results

The medicinal plants in the Center's collection were evaluated according to the composition of the active principles (Figure 1), so the highest share is attributed to essential oils (29%), consisting of multiple mixtures of aliphatic, aromatic and hydroaromatic hydrocarbons belonging to the class of terpenoids, alkaloids are ranked 2nd place (14%), followed by

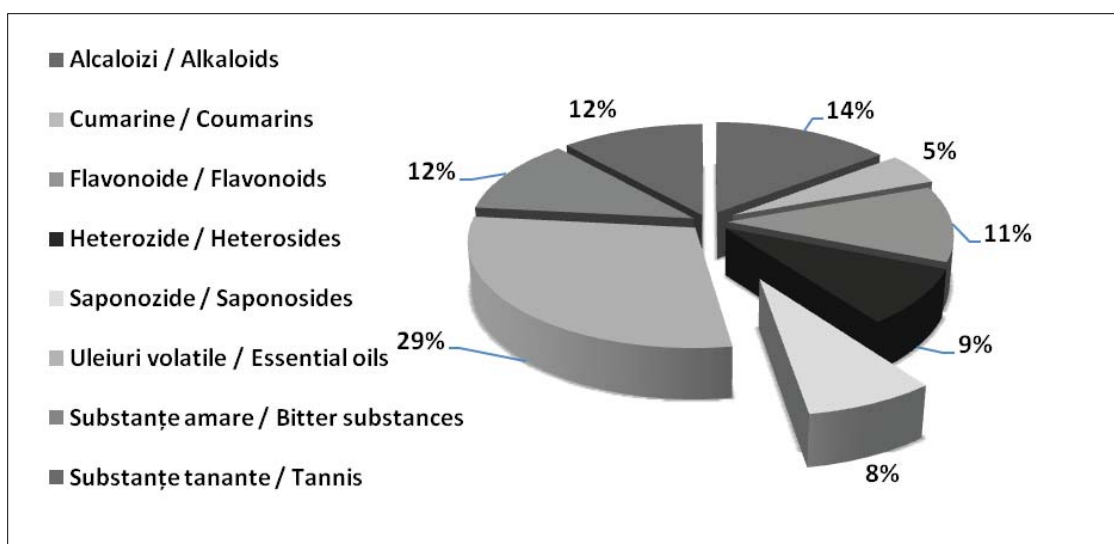


Fig. 1 Repartizarea plantelor medicinale ale colecției CȘPDPM după grupe de principii active.
Fig. 1 Distribution of medicinal plants of the SPCDMP collection according to groups of active principles.

noide (11%). În minoritate se clasează cumarinele, ponderea acestora constituind 5%.

Studiile recente au atestat că conținutul compușilor chimici în plante depinde de factori intrinseci – genotipul plantei și factori extrinseci – mediu ambiant, manipulare/colectare și depozitare a produselor vegetale. Acumularea principiilor active, realizată preponderent în cuticulă, epidermă și trihomi, este direct proporțională cu expunerea la razele ultraviolete. De exemplu, a fost demonstrată influența perioadei de recoltare a produsului vegetal de anghinare (*Cynara scolymus* L.) asupra conținutului de principii active acumulate. Conținutul cel mai înalt a compușilor polifenolici s-a determinat la începutul de înflorire a plantei, când minim 15-20% din flori sunt deschise ($52,66 \pm 1,93$ GAE mg/g în frunzele bazale) [4].

Totodată, din numărul total al speciilor din colecție, 22 de plante sunt considerate cu potențial toxic (0,11%), prin conținutul de compuși chimici, supradozarea cărora pot provoca intoxicație. Acestea sunt, în mare parte, plante cu conținut de alcaloizi, heterozide cardiotonice și cianogenice, saponozide furocumarine, derivații antracenului, rezine și ulei volatil. Plantele cu potențial toxic sunt din diverse categorii, în funcție de toxicitate, la administrarea lor perorală:

- *extrem de toxice*: sunt considerate plantele care provoacă intoxicație în doze de 5 mg/kg masă corporală și mai puțin, în aceasta grupă se regăsesc: *Atropa belladonna* L., *Hyoscyamus niger* L., *Datura stramonium* L., *Scopolia carniolica* Jacq., *Ricinus communis* L., *Digitalis purpurea* L., *Conium maculatum* L., *Iuniperus sabina* L.;
- *foarte periculoase*: plantele care provoacă intoxicație de la 5 până la 50 mg/kg greutate corporală. Din colecție, în acest grup clasăm: *Chelidonium majus* L., *Convallaria majalis* L., *Adonis vernalis* L., *Buxus sempervirens* L., *Solanum dulcamara* L.;
- *moderat de periculoase*: sunt plantele care provoacă semne de intoxicație la ingerare de la 50 până la 500 mg/kg masă corporală, cum ar fi: *Ranunculus sceleratus* L., *Cynoglossum officinale* L., *Aristolochia clematidis* L., *Hedera helix* L., *Tanacetum vulgare* L. [5].

Mecanismele de acțiune ale plantelor toxice sunt diverse și depind de grupul de compuși chimici, proprietăți și concentrația lor în organe. Neuroreceptorii reprezintă ținta principală pentru multe principii active, care au o structură chimică asemănătoare cu neurotransmițătorii endogeni, cum ar fi acetilcolina, dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina, receptorii GABA. Principiile neuroactive pot funcționa fie ca agonști, care suprastimulează neuroreceptorii, fie ca antagonști, care blochează un anumit neuroreceptor, prin excitație, halucinații și tulburări generale asupra sistemului nervos central [5].

Plantele medicinale din colecția Centrului au fost evaluate după acțiuni farmacologice și repartizate după sisteme (Tabelul 1): sistemul nervos, digestiv, respirator, cardiovascular, excretor, procese metabolice, inclusiv plante medicinale cu proprietăți antibacteriene, antimicotice și antihelmințice, în mare parte produse care se regăsesc în studiu în cadrul proiectului: „*Studiul biologic și fitochimic al plantelor medicinale*

tannins (12%), bitter substances (12%) and flavonoids (11%). Coumarins are in the minority, their share being 5%.

Recent studies have shown that the content of chemical compounds in plants depends on intrinsic factors – plant genotype and extrinsic factors – environment, handling / collection and storage of vegetal products. The accumulation of active principles, mainly in the cuticle, epidermis and trichomes, is directly proportional to exposure to ultraviolet rays. For example, the influence of the harvest period of the artichoke vegetal product (*Cynara scolymus* L.) on the content of accumulated active principles has been demonstrated. The highest content of polyphenolic compounds in the basal leaves was determined at the beginning of flowering of the plant, when at least 15-20% of the flowers are open (52.66 ± 1.93 GAE mg/g) [4].

At the same time, out of the total number of species in the collection, 22 plants are considered with toxic potential (0.11%), due to the content of chemical compounds, the overdose of which can cause intoxication. These are mostly alkaloid-containing plants, cardiogenic and cyanogenic heterosides, furocoumarin saponosides, anthracene derivatives, resins and essential oil. Potentially toxic plants fall into various categories, depending on toxicity, on their oral administration:

- *extremely toxic*: plants considered to cause intoxication in doses of 5 mg/kg body weight and less are considered to be found in this group: *Atropa belladonna* L., *Hyoscyamus niger* L., *Datura stramonium* L., *Scopolia carniolica* Jacq., *Ricinus communis* L., *Digitalis purpurea* L., *Conium maculatum* L., *Iuniperus Sabina* L.;
- *very dangerous*: plants that cause intoxication from 5 to 50 mg/kg body weight. From the collection, in this group we classify: *Chelidonium majus* L., *Convallaria majalis* L., *Adonis vernalis* L., *Buxus sempervirens* L., *Solanum dulcamara* L.;
- *moderately dangerous*: these are plants that cause signs of intoxication when ingested from 50 to 500 mg/kg body weight, such as: *Ranunculus sceleratus* L., *Cynoglossum officinale* L., *Aristolochia clematidis* L., *Hedera helix* L., *Tanacetum vulgare* L. [5].

The mechanisms of action of toxic plants are diverse and depend on the group of chemical compounds, their properties and concentration in organs. Neuroceptors are the main target for many active ingredients, which have a chemical structure similar to endogenous neurotransmitters, such as acetylcholine, dopamine, norepinephrine, adrenaline, serotonin, GABA receptors. Neuroactive principles can function either as agonists, which overstimulate neuroreceptors, or as antagonists, which block a certain neuroreceptor, through excitation, hallucinations and general disorders of the central nervous system [5].

The medicinal plants in the Centre's collection were evaluated by pharmacological actions and distributed by systems (Table 1): nervous, digestive, respiratory, cardiovascular, excretory, metabolic processes, including medicinal plants with antibacterial, antifungal, and anthelmintic properties, mostly products that are found in the study within the project: “*Biological and phytochemical study of medicinal plants with antimicrobial, antioxidant and hepatoprotective activity*” [6, 7].

Tablelul 1. Plante medicinale cu conținut de principii active, repartizate după acțiunea farmacologică.**Table 1.** Medicinal plants containing active ingredients, distributed according to their pharmacological action.

Plante cu acțiune asupra sistemului nervos // *Plants with action on the nervous system*

- Analgezice / *Analgesics*: *Amygdalus communis* L., *Atropa belladonna* L., *Chelidonium majus* L., *Macleaya microcarpa* (Maxim.), *Papaver somniferum* L.
- Sedative / *Sedatives*: *Ginkgo biloba* L., *Humulus lupulus* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Valeriana officinalis* L.
- Antiparkinsonice / *Antiparkinsonian*: *Datura stramonium* L.

Plante cu acțiune asupra sistemului digestiv // *Plants with action on the digestive system*

- Coleretice, colagoge / *Choleretics, collagogues*: *Berberis vulgaris* L., *Betula verrucosa* L., *Calendula officinalis* L., *Chelidonium majus* L., *Centaurea cyanus* L., *Cynara scolymus* L., *Dracocephalum moldavica* L., *Fraxinus excelsior* L., *Fumaria officinalis* L., *Gypsophila paniculata* L., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Hypericum perforatum* L., *Mentha piperita* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Silybum marianum* (L.) Gaertner, *Tanacetum vulgare* L., *Taraxacum officinale* (L.) Weber, *Rosa canina* L.
- Laxative, purgative / *Laxatives, purgatives*: *Armoracia rusticana* Gaertn., Mey. et Scherb., *Linum usitatissimum* L., *Ricinus communis* L.
- Carminative / *Carminatives*: *Anethum graveolens* L., *Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Fumaria officinalis* L., *Levisticum officinale* Koch., *Ocimum basilicum* L., *Nepeta cataria* L.
- Stomahice / *Stomachicals*: *Achillea millefolium* L., *Acorus calamus* L., *Anethum graveolens* L., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia vulgaris* L., *Carum carvi* L., *Cichorium inthybus* L., *Coriandrum sativum* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Inula helenium* L., *Levisticum officinale* Koch., *Ocimum basilicum* L., *Rumex acetosa* L., *Symphytum officinale* L., *Taraxacum officinale* (L.) Weber.
- Hepatoprotectoare / *Hepatoprotectives*: *Agrimonia eupatoria* L., *Chelidonium majus* L., *Cichorium inthybus* L., *Cynara scolymus* L., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Silybum marianum* (L.) Gaertner, *Symphytum officinale* L., *Potentilla anserina* L.
- Galactogoge: *Carum carvi* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Galega officinalis* L.

Plante cu acțiune asupra sistemului respirator // *Plants with action on the respiratory system*

- Antitusive / *Antitussives*: *Amygdalus communis* L., *Glaucium flavum* Crantz., *Papaver rhoeas* L., *Papaver somniferum* L., *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L.
- Expectorante / *Expectorantes*: *Althaea officinalis* L., *Armoracia rusticana*, *Eryngium planum* L., *Hyssopus officinalis* L., *Inula helenium* L., *Iris germanica* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Gypsophila paniculata* L., *Marrubium vulgare* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L., *Saponaria officinalis* L., *Tussilago farfara* L., *Verbascum phlomoides* L.

Tablelul 2. Plante medicinale cu conținut de principii active, repartizate după acțiunea farmacologică.**Table 2.** Medicinal plants containing active ingredients, distributed according to their pharmacological action.

Plante cu acțiune asupra sistemului cardiovascular // *Plants with action on the cardiovascular system*

- Antihipertensive / *Antihypertensives*: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, *Aesculus hippocastanum* L., *Viburnum opulus* L.
- Cardiotonice / *Cardiacs*: *Adonis vernalis* L., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, *Convallaria majalis* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Digitalis lanata* Ehrh., *Digitalis purpurea* L., *Leonurus cardiaca* L.

Plante cu acțiune asupra aparatului excretor // *Plants with action on the excretory system*

- Diuretice / *Diuretics*: *Berberis vulgaris* L., *Betula verrucosa* L., *Centaurea cyanus* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Filipendula ulmaria* L. Maxim., *Fraxinus excelsior* L., *Galium verum* L., *Juniperus communis* L., *Iris germanica* L., *Lamium album* L., *Levisticum officinale* Koch., *Ocimum basilicum* L., *Padus racemosa* Gilib., *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss., *Polygonum aviculare* L., *Populus nigra* L., *Prunus padus* L., *Prunus spinosa* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Saponaria officinalis* L., *Solidago canadensis* L., *Solidago virgaurea* L., *Thymus serpyllum* L., *Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia tomentosa* Moench., *Trifolium pratense* L., *Urtica dioica* L., *Viburnum opulus* L., *Zea mays* L.
- În litiaze renale / *In nephrolithiasis*: *Acorus calamus* L., *Corylus avellana* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Zea mays* L.

Plante cu acțiune asupra proceselor metabolice // *Plants with action on the metabolic processes*

- Antiinflamatoare / *Antiinflammatorys*: *Althaea officinalis* L., *Bergenia crassifolia* (L.), *Calendula officinalis* L., *Chaenomeles japonica* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Filipendula ulmaria* L. Maxim., *Fraxinus excelsior* L., *Galium verum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Hypericum perforatum* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Macleaya microcarpa* (Maxim.) *Matricaria chamomilla* L.
- Vitaminizante / *Vitamins*: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., *Chaenomeles japonica* L., *Calendula officinalis* L., *Capsella bursa pastoris* (L.) Medic., *Daucus carota* L., var. *Sativa*, *Fragaria vesca* L., *Viburnum opulus* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Pastinaca sativa* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss., *Ribes nigrum* L., *Rosa canina* L., *Rubus fruticosus* L., *Rubus idaeus* L., *Sorbus aucuparia* L., *Zea mays* L.
- Antihistaminice / *Antihistamines*: *Matricaria chamomilla* L., *Verbascum phlomoides* L.
- Hipoglicemizante / *Hypoglycemics*: *Cichorium inthybus* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Galega officinalis* L., *Junglans regia* L., *Salvia officinalis* L., *Sorbus aucuparia* L., *Urtica dioica* L.

Plante cu proprietăți antibacteriene, antimicotice și antihelmintice // *Plants with antibacterial, antifungal and anthelmintic properties*

- Antibacteriene / *Antibacterial*: *Aristolochia clematitis* L., *Bergenia crassifolia* (L.), *Coriandrum sativum* L., *Cornus mas* L., *Ginkgo biloba* L., *Hypericum perforatum* L., *Macleaya microcarpa* (Maxim.), *Nepeta cataria* L., *Thymus vulgaris* L.
- Antimicotice / *Antifungal*: *Hippophae rhamnoides* L., *Rosa damascena* Mill.
- Antihelmintice / *Anthelmintic*: *Achillea millefolium* L., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia vulgaris* L., *Cornus mas* L., *Inula helenium* L., *Ruta graveolens* L., *Tanacetum vulgare* L.

cu acțiune antimicrobiană, antioxidantă și hepatoprotectoare” [6, 7].

Materia primă vegetală utilizată în fitoterapie, în industria de medicamente este reprezentată de produsul vegetal medicinal, care prin particularitățile genetice și funcționale ale speciei, în urma biosintezei, acumulează principiile active. Recoltarea produselor vegetale prezintă o operațiune importantă din complexul de lucrări, prin care se asigură calitatea în strictă corespundere cu cerințele farmaceutice, condiționarea produselor vegetale, cât și asigurarea condițiilor de păstrare.

Conform datelor prezentate în Figura 2, ponderea cea mai înaltă, din produsele vegetale recoltate din colecție o constituie părțile aeriene (34,5%), urmate de inflorescențe (17,5%). În minoritate se recoltează scoarța și părțile subterane.

Optimizarea metodelor de extragere a principiilor active

O condiție primordială în asigurarea unei concentrații maxime de principii active în soluțiile extractive, este optimizarea metodelor de extracție. Astfel, au fost optimizate condițiile de extracție a compușilor fenolici în părți aeriene de *Hyperici herba*, *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, cu utilizarea alcoolului etilic în concentrație de 30-90%, cu extragere optimă a polifenolilor și flavonoidelor, având în calitate de extragent alcool etilic de 50-60% [8]. Prin procedeul extracției fracționate și caracteristicii spectrale a fracțiilor extractive din florile de *Centaurea cyanus* a fost demonstrată necesitatea extracției succesive cu cloroform și alcool etilic, pentru înlăturarea clorofilului [9].

În prezent se utilizează pe larg planurile experimentale în studiul comparativ al metodelor de extracție. Folosirea planului experimental fracționat D optimal cu trei factori și două niveluri a demonstrat că conținutul maxim de principii active din *Cynarae folia* se obțin prin extracția asistată de ultrasunet; folosind planul experimental fracționat rezoluție V+ cu cinci

The vegetal raw material used in phytotherapy, in the medicine industry is represented by the medicinal vegetal product, which through the genetic and functional particularities of the species, following the biosynthesis, accumulates the active principles. The harvesting of vegetal products presents an important operation from the complex of works, through which the quality is ensured in strict accordance with the pharmacopoeic requirements, the conditioning of the vegetal products, as well as the ensuring of the storage conditions.

According to the data presented in Figure 2, the highest share of vegetal products harvested from the collection belongs to aerial parts (34.5%), followed by inflorescences (17.5%). In the minority are harvested bark and underground parts.

Optimization for extraction methods of active principles

A primordial condition in ensuring a maximum concentration of active principles in extractive solutions, is optimization of extraction methods. Thus, the extraction conditions of phenolic compounds in the aerial parts of *Hyperici herba*, *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, with the use of ethyl alcohol in a concentration of 30-90%, had shown optimal extraction of polyphenols and flavonoids having as extragent 50-60% ethyl alcohol [8]. By the procedure fractional extraction and spectral characteristic of extractive fractions from *Centaurea cyanus* flowers has been shown to require successive extraction with chloroform and ethyl alcohol, for the removal of chlorophyll [9].

Experimental plans are currently widely used in the comparative study of extraction methods. Using the optimal fractional experimental plan D with three factors and two levels demonstrated that the maximum content of active ingredients in *Cynarae folia* is obtained by ultrasound-assisted extraction; using the fractional resolution experimental plan V + with five

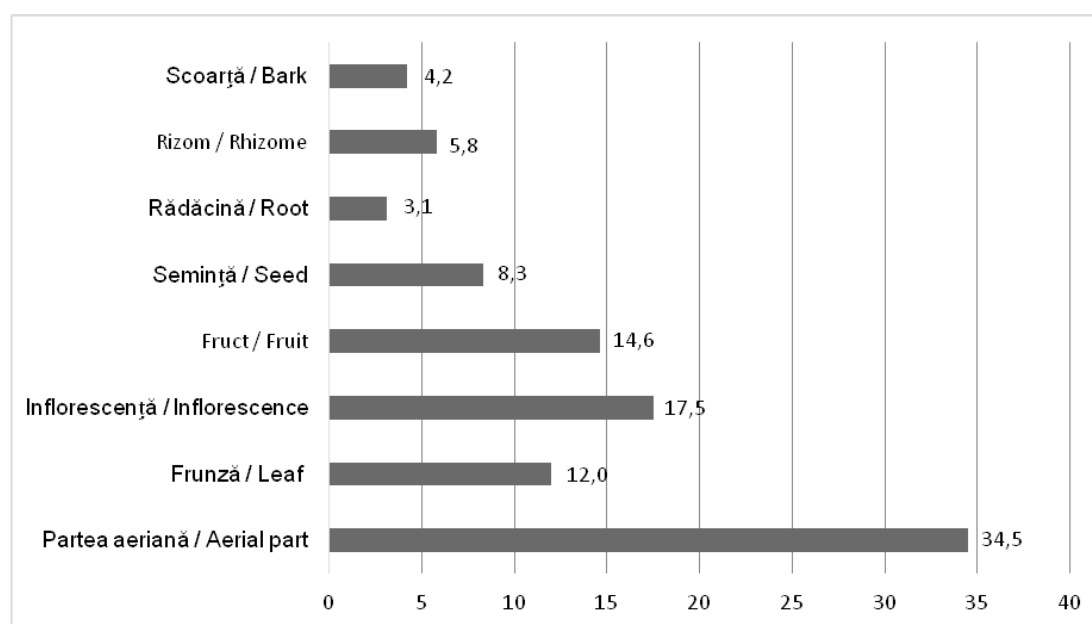


Fig. 2 Produse vegetale recoltate din colecția CȘPDMP (%).

Fig. 2 Vegetable products harvested from the SPCDMP (%)

factori și două niveluri 2^{5-2} , a fost evidențiat regimul optimal de lucru: temperatura de 80°C, durata de extracție 30 minute, concentrația alcoolului 70% la amplitudinea de 100 kHz [10].

Identificarea și dozarea principiilor active

În analiza chimică a produselor vegetale se utilizează multiple metode analitice ca: reacțiile de culoare, metode titrimetrice, gravimetrice, însă tendința mondială este configurată de utilizarea metodelor fizico-chimice spectrale, electrochimice și de cromatografie. Prin aplicarea reacțiilor specifice de identificare, culoare și precipitare au fost puse în evidență grupe de flavonoide: flavone, flavanone, flavonoli, flavononoli în produsele vegetale: *Agrimoniae herba*, *Centaureae flores*, *Cichorii herba*, *Cynarae folia*, *Hyperici herba*, *Rubi fruticosi fructus*, iar prin cromatografie pe strat subțire s-au pus în evidență constituenți fenolici: rutozidă, quercetozidă, apigenină, acid cafeic și acid clorogenic [11, 12, 13].

Prin analiza HPLC a frunzelor de anghinare (*Cynarae folia*) au fost identificați 7 compuși cu conținutul în descreștere după cum urmează: acid clorogenic, acid cafeic, apigenină, luteolină, acid ferulic, acid p-cumaric și acid gentisic, iar în inflorescențe au fost identificați și dozați doar 4 compuși: acidul clorogenic, apigenina, luteolina și acidul cafeic [14]. Screeningul HPLC a părților aeriene de *Centaurea cyanus* a relevat prezența acizilor fenilpropanici, a flavonilor și flavonolilor și a determinat cantitativ hiperozida, apigenina și acidul clorogenic [9].

Un vector nou al cercetărilor fitochimice și fitoterapeutice se bazează pe confirmarea eficacității componentelor uleiurilor volatile ca agenți antimicrobieni. Provocarea majoră în studiul uleiurilor volatile constă din complexitatea tehnologiilor de extracție și separare a acestor principii active. Pentru izolarea și analiză chimică a uleiului volatil de *Hypericum perforatum* L. au fost recoltate părțile aeriene ale speciei (în faza de înflorire în masă), din flora spontană a Republicii Moldova și din colecția CȘPDPM. S-a dovedit, că în părțile aeriene proaspete recoltate din flora spontană conținutul de ulei volatil a fost 0,303% și din colecție 0,204% [15]. Prin gaz cromatografie cu spectrometrie de masă în uleiul volatil din produsul vegetal (*Hyperici herba*) colectat din flora spontană s-au identificat 97 de componente, 33 din care constituie totalul de 82,26%, componentii majori fiind următorii: β -cariofilen (18,39%), germacren D (15,55%), β -pinen (12,47%), β -cis-ocimen (7,12%). Componentii majori al uleiului volatil din *Hyperici herba* colectată din colecția CȘPDPM sunt: germacren D (35,78%), β -cariofilen (24,75%), biciclogermacren (5,64%) iar rezultatele obținute au demonstrat că conținutul și compoziția chimică a uleiului volatil din părțile aeriene de *H. perforatum* sunt influențate de condițiile de creștere [16].

Determinarea acțiunii antioxidante

În ultimii ani, o mare atenție a fost acordată antioxidanților și asocierii lor cu multiple beneficii asupra sănătății, multe dintre aceste studii concentrându-se asupra compușilor polifenolici [17]. Substanțele antioxidante au abilitatea de a inhiba acțiunea nefastă a radicalilor liberi, care sunt molecule cu un electron impar pe orbitalul extern, protejând astfel organismul uman de efectele nocive. Pentru determinarea activității antioxidante a unor plante medicinale din colecția CȘPDPM,

factors and two levels 2^{5-2} , the optimal working regime was highlighted: temperature 80°C, extraction time 30 minutes, alcohol concentration 70% at the 100 kHz amplitude [10].

Identification and dosing of active principles

In the chemical analysis of vegetal products are used multiple analytical methods such as: color reactions, titrimetric methods, gravimetric, but the global trend is configured using physico-chemical methods, spectral, electro-chemical and chromatographic. By applying specific reactions of identification, color and precipitation were highlighted groups of flavonoids: flavones, flavanones, flavonols, flavononols in vegetal products: *Agrimoniae herba*, *Centaureae flores*, *Cichorii herba*, *Cynarae folia*, *Hyperici herba*, *Rubi fruticosi fructus* and thin layer chromatography showed phenolic constituents: rutoside, quercetoside, apigenin, caffeic acid and chlorogenic acid [11, 12, 13].

HPLC analysis of artichoke leaves (*Cynarae folia*) identified 7 compounds with decreasing content as follows: chlorogenic acid, caffeic acid, apigenin, luteolin, ferulic acid, p-coumaric acid and gentisic acid, and in the inflorescences were identified and dose only 4 compounds: chlorogenic acid, apigenin, luteolin and caffeic acid [14]. HPLC screening of the aerial parts of *Centaurea cyanus* revealed the presence of acids, phenylpropanes, flavones and flavonols and quantitatively determination of the hyperoside, apigenin and chlorogenic acid [9].

A new vector of phytochemical and phytotherapeutical research is based on the confirmation of the effectiveness of essential oil components as antimicrobial agents. The major challenge in the study of essential oils consists in the complexity of extraction and separation technologies of these active principles. For the isolation and chemical analysis of the essential oil of *Hypericum perforatum* L. the aerial parts of the species were harvested (in the mass flowering phase), from spontaneous flora of the Republic of Moldova and from the SPCFMP collection. It turned out, that in the aerial parts freshly harvested from spontaneous flora the essential oil content was 0.303% and from collection 0.204% [15]. By gas chromatography with mass spectrometry in essential oil from vegetal product (*Hyperici herba*) collected from spontaneous flora were identified 97 components, 33 of which constitute a total of 82.26%, the major components being the following: β -caryophyllen (18.39%), germacren D (15.55%), β -pinen (12.47%), β -cis-ocimen (7.12%). Major components of the essential oil from *Hyperici herba* collected from the SPCFMP collection are: germacren D (35.78%), β -caryophyllene (24.75%), biciclogermacren (5.64%) and the obtained results showed that the content and chemical composition of the essential oil in the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. are influenced by growing conditions [16].

Determination of antioxidant action

In recent years, great attention has been paid to antioxidants and their association with multiple health benefits, many of these studies are focusing on polyphenolic compounds [17]. Antioxidants have the ability to inhibit the harmful action of free radicals, which are molecules with one electron odd on the outer orbital, thus protecting the human body from harmful effects. For determination of the antioxidant activity of

s-au aplicat trei tehnici complementare (DPPH, ABTS, FRAP). S-a constatat că extractele din diverse produse vegetale, pot preveni acțiunea oxidantă a radicalilor liberi prin captarea sau inhibiția lor, după cum urmează, în descreștere a potențialului antioxidant: *A. eupatoria* > *C. inthybus* > *R. fruticosus* > *H. perforatum* > *C. scolymus*. Aceste date au fost corelate cu conținutul de compuși polifenolici [7, 18].

Determinarea acțiunii antiinflamatorii

Studiul activității antiinflamatorii a extractului polifenolic și poliholozidic din părți aeriene de *C. cyanus* L. a fost realizat *in vivo* prin inducerea edemului labei posterioare la șobolani. Ambele extracte au demonstrat eficacitate în condițiile inflamației acute. Extractul polifenolic a manifestat acțiune antiinflamatoare pronunțată, comparabilă cu cea a diclofenacului de sodiu – antiinflamator nesteroidian, utilizat ca standard. Administrarea extractelor analizate în inflamația indusă a exercitat influență pozitivă asupra indicilor hematologici [19, 20].

S-a demonstrat de asemenea și acțiunea antiinflamatoare *in vivo* a extractelor uscate din *Hyperici flores* și *Hyperici herba*. Extractele uscate au fost introduse intraperitoneal în dozele 50-200 mg/kg. S-a demonstrat că inhibiția inflamației extractului din părțile aeriene este mai pronunțată comparativ cu cea a extractului din flori.

Determinarea acțiunii bacteriostatice, bactericide și antifungice

Studiul activității antibacteriene a uleiului volatil din *Hyperici herba* a fost analizată prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat din carne). Activitatea antibacteriană a fost analizată pe următoarele culturi de referință a microorganismelor Gram-pozitive: *Staphylococcus aureus* (tulpina 209-P) și Gram-negative: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (tulpina ATCC 25922), *Proteus vulgaris* (tulpina HX 19222), *Pseudomonas aeruginosa* (tulpina ATCC 27853). Proprietatea antifungică a uleiului volatil au fost demonstrată pe tulpini de *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* și *Penicillium*. Rezultatele studiului au constatat că uleiul volatil din *Hypericum perforatum* L. manifestă activitate bacteriostatică înaltă față de microorganismele Gram-pozitive, în concentrație de 0,0009% către *S. aureus* și 0,125% către *E. faecalis*. Activitatea bactericidă față de *S. aureus* constituie 0,0037%, și față de *E. faecalis* – 0,25%. Concentrația bacteriostatică și bactericidă a uleiului volatil către microorganisme Gram-negative: *E. coli* (tulpina ATCC 25922), *P. vulgaris* (tulpina HX 19222) și *P. aeruginosa* (tulpina ATCC 27853) este mai mare de 0,5%. Uleiul volatil din *Hyperici herba* a demonstrat proprietăți antifungice față de toți fungii luați în studiu până la concentrația de 0,5% [21].

Activitate antimicrobiană au demonstrat și extractele din *Cynara scolymus*, obținute prin metoda asistată de ultrasunete. A fost determinată concentrația bactericidă minimă față de *S. aureus*, *P. aeruginosa* și *B. cereus* (0,341 mg/ml) și *E. coli* și *C. albicans* (0,687 mg/ml) [22].

Determinarea viabilității și citotoxicității pe hepatocite izolate

În extractele de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, considerate practic netoxice atât la administrarea enterală cât

some medicinal plants from the SPCFMP collection, were applied three complementary techniques (DPPH, ABTS, FRAP). It was found that extracts from various vegetal products, can prevent the oxidative action of free radicals by capturing or their inhibition, as follows, in decreasing antioxidant potential: *A. eupatoria* L. > *C. inthybus* L. > *R. fruticosus* L. > *H. perforatum* L. > *C. scolymus* L. These data were correlated with the content of polyphenolic compounds [7, 18].

Determination of anti-inflammatory action

Study of anti-inflammatory activity of the polyphenolic and polyholosidic extract of aerial parts of *C. cyanus* L. was performed *in vivo* by inducing the edema of the hind paw in rats. Both extracts demonstrated efficacy in conditions of acute inflammation. The polyphenolic extract showed pronounced anti-inflammatory actions, comparable to that of sodium diclofenac – anti-inflammatory nonsteroidal, used as standard. The administration of the analyzed extracts in induced inflammation exerted a positive influence on hematological indices [19, 20].

Have also been demonstrated the anti-inflammatory action *in vivo* of dry extracts of *Hyperici flores* and *Hyperici herba*. Dry extracts were introduced intraperitoneally in doses of 50-200 mg/kg. Inhibition of inflammation of the extract from the aerial parts has been shown to be more pronounced compared to that of the flower extract.

Determination of bacteriostatic, bactericidal, and antifungal action

Study of antibacterial properties of the essential oil of *Hyperici herba* was performed by the dilution method in series in liquid nutrient medium (meat peptone broth). Antibacterial activity was analyzed on the following reference cultures of Gram-positive microorganisms: *Staphylococcus aureus* (209-P strain) and Gram-negative: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (ATCC 25922 strain), *Proteus vulgaris* (HX 19222 strain), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 strain). The antifungal property of essential oil has been demonstrated on strains of *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* and *Penicillium*. The results of the study found that the essential oil in *Hypericum perforatum* L. exhibits high bacteriostatic activity against Gram-positive, at a concentration of 0.0009% to *S. aureus* and 0.125% to *E. faecalis*. The bactericidal activity against *S. aureus* constitutes 0.0037%, and compared to *E. faecalis* – 0.25%. Bacteriostatic and bactericidal concentration of essential oil to Gram-negative microorganisms: *E. coli* (ATCC 25922 strain), *P. vulgaris* (HX19222 strain) and *P. aeruginosa* (ATCC 27853 strain) is greater than 0.5%. The essential oil from *Hyperici herba* has demonstrated antifungal properties against all fungi studied up to concentration of 0.5% [21]. The antimicrobial activity was also demonstrated by the extracts from *Cynara scolymus* L., obtained by the ultrasound-assisted method. The minimum bactericidal concentration against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *B. cereus* (0.341 mg/ml) and *E. coli* and *C. albicans* (0.687 mg/ml) was determined [22].

Determination of viability and cytotoxicity on isolated hepatocytes

In the extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, considered practically non-toxic for both enteral and parenteral

și parenterală: (DL25% = 4412 mg/kg pentru extractul din *Agrimoniae herba*); (DL50% >5000 mg/kg pentru extractele din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*), conform Metodei TG 423 (Acute Toxic Class Method) ce au caracterizat extractele ca fiind practic inofensive-clasa de toxicitate 5 [23], s-a determinat *in vitro* viabilitatea și citotoxicitatea celulară pe hepatocite. Hepatocitele izolate de la șobolani, în două etape conform protocolului, s-au tratat cu reagentul MTT (bromură de 3-(4,5-dimetiltiazol)-2,5-difenil-2H-tetrazolium), apoi cu extracte de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* în concentrații de 100 mg, 200 mg, 600 mg, 1000 mg, cu măsurarea ulterioară a absorbanței și efectuarea calculelor. Viabilitatea celulară a hepatocitelor tratate cu extract de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* în dozele de 100 mg și 200 mg sunt similare și constituie 92% și respectiv 76% față de lotul martor; doza de 600 mg prezintă 77,1% pentru *Agrimoniae herba* și respectiv 57,2% pentru *Cichorii herba*. Cea mai mică viabilitate celulară s-a atestat la concentrația de 1000 mg, aceasta fiind de 41,6% la *Cichorii herba* și 49,9% pentru *Agrimoniae herba*, doză considerată cu cea mai înaltă acțiune citotoxică. Astfel, dozele de 100-600 mg obținute din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* manifestă viabilitate celulară și nu afectează celulele hepatice, respectiv pot fi utilizate în studii ulterioare.

Discuții

Cunoașterea compoziției chimice a plantelor precum și dinamica acumulării acestor metaboliți secundari în organe prezintă un interes deosebit, pentru aprecierea valorii terapeutice și a tehnicii de extracție sau izolare, astfel încât acțiunea farmacologică să fie maximală. Studiile fitochimice și biologice a plantelor medicinale din colecția Centrului rămâne una din direcțiile prioritare de cercetare, colecție cu 200 taxoni de plante din 14 grupe de principii active cu diverse acțiuni farmacoterapeutice, inclusiv plante cu risc de vulnerabilitate și grad de dispariție. În buna cunoaștere și promovare a plantelor medicinale s-a editat compendiumul „*Plante din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu”*” și ghidul „*Centrul Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale*” pentru petrecerea stagiului practic la disciplinele „Botanica farmaceutică” și „Farmacognozie” pentru studenții Facultății de Farmacie, cât și specialiștilor în domeniul plantelor medicinale și consumatorilor de produse fitoterapeutice.

În studiul nostru s-a realizat evaluarea și repartizarea plantelor din colecție după conținutul chimic al produselor vegetale, acțiunii farmacologice, gradul de vulnerabilitate și toxicitate, ce denotă că colecția include un număr semnificativ de plante cu conținut de ulei volatil, urmat de compuși fenolici, flavonoidi, taninuri, vitamine, alcaloizi, etc, specii cu un spectru larg de utilizări: ca agenți sedativi, antiinflamatori, antimicrobieni, carminativi, antihelmintici. Au fost elaborate metode de identificare și dozare a principiilor active cu aplicarea tehnicilor fizico-chimice spectrale și de cromatografie. S-au studiat procedee de optimizare a extracțiilor compușilor chimici, asistate de ultrasunet, macerare și diferite concentrații ale reagenților, în extragerea optimală a principiilor active.

administered: (LD25% = 4412 mg/kg for *Agrimoniae herba* extract); (LD50% >5000 mg/kg for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*), according to TG 423 (Acute Toxic Class Method) which characterized the extracts as practical harmless-toxicity class 5 [23], were determined *in vitro* viability and cytotoxicity – on hepatocytes. Hepatocytes isolated from rats, in two stages according to protocol, were treated with MTT reagent (3-(4,5-dimethylthiazole)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium), then with extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* in concentrations of 100 mg, 200 mg, 600 mg, 1000 mg, with subsequent absorbance measurement and performance calculations. Cell viability of hepatocytes treated with *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* extract in doses of 100 mg and 200 mg are similar and constitute 92% and respectively 76% compared to the control group; the 600 mg dose presents 77.1% for *Agrimoniae herba* and 57.2% for *Cichorii herba*, respectively. The lowest cell viability was attested at concentration of 1000 mg, this being 41.6% for *Cichorii herba* and 49.9% for *Agrimoniae herba*, dose considered with the highest cytotoxic action. Thus, doses of 100-600 mg obtained from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* show cell viability and do not affect liver cells, respectively can be used in further studies.

Discussion

The knowledge of the chemical composition of plants as well as the dynamics of the accumulation of these secondary metabolites in organs is of particular interest, for appreciation of the therapeutic value and of the extraction or isolation technique, so that the pharmacological action to be maximally potent.

Phytochemical and biological studies of medicinal plants from the Centre's collection remain one of the priority research directions, a collection with 200 plant taxa from 14 groups of active principles and various pharmacotherapeutic actions, including plants at risk of vulnerability and extinction. In good knowledge and promotion of medicinal plants, was successfully edited the compendium “*Plants from the collection of the Scientific Center for Cultivation of Medicinal Plants Nicolae Testemitanu SUMPh*” and the guide “*Scientific Center for Cultivation of Medicinal Plants*” for practical training in the disciplines “Pharmaceutical botany” and “Pharmacognosy” of students from Faculty of Pharmacy, as well as specialists in the field of medicinal plants and consumers of phytotherapeutic products.

In our study we evaluated and distributed the plants from the collection by chemical content of vegetal products, pharmacological actions, degree of vulnerability and toxicity, which indicates that the collection includes a significant number of plants with essential oil content, followed by phenolic compounds, flavonoids, tannins, vitamins, alkaloids, etc., species with a wide range of uses: as sedatives, anti-inflammatory, antimicrobial, carminative, anthelmintic. Methods for identification and dosing of active principles have been developed, with the application of spectral physico-chemical and chromatography techniques. Were studied procedures for optimizing

Studiul activității farmacologice al extractelor din plante, realizat *in vitro* și *in vivo*, prin cercetarea potențialului antioxidant (metoda DPPH, ABTS și FRAP); antimicrobian (metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid); antiinflamator (inducerea edemului labei posterioare la șobolani) și determinarea viabilității și citotoxicității pe hepatocite izolate cu reagentul MTT, denotă că plantele și produsele vegetale din colecție pot servi ca sursă de materie primă pentru industria farmaceutică.

Concluzii:

1) Centrul Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu” poate servi la bioconservarea plantelor medicinale din flora spontană, precum și celor rare și pe cale de dispariție, prin introducerea lor în cultură.

2) Centrul servește ca un edificiu educațional atât pentru studenții Facultății de Farmacie cât și a altor instituții cu profil medical, farmaceutic, biologic, prin popularizarea științei, utilizarea rațională a plantelor medicinale, cât și prin perspectiva utilizării colecției de plante ca bază științifică și schimb de experiență.

3) Plantele medicinale din colecția Centrului pot servi ca sursă de materie primă pentru industria farmaceutică autohtonă în scopul obținerii de noi produse fitoterapeutice.

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal în realizarea studiului și elaborarea manuscrisului.

Declarația conflictului de interese

Autorii declară lipsa oricărui conflict de interese, financiar sau nonfinanciar, asociat cu această lucrare.

Referințe / references

- Burac T. Plante noi și rare din Republica Moldova și România. *St. Cerc. Biol. Veget.*, vol. 48, nr. 2, București, 1996: 119-121.
- Ungureanu I. *et al.* Scientific Center for the Cultivation of Medicinal Plants, Chisinau, 2019: 3-28.
- Cartea Roșie a Republicii Moldova. Ediția a III, Chișinău, Ed. Știința, 2015: 492 p.
- Ciobanu C. Dinamica acumulării principiilor active în frunzele de *Cynara scolymus* L., cultivată în Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe. Științele vieții*. Chișinău, 2015; 1 (325): 144-151.
- Wink M. Mode of action and toxicology of plant toxins and poisonous plants. *Mitt. Julius Kühn-Inst.* 2009; 421: 93-112.
- Ciobanu N., Cojocaru-Toma M., Pompuș I., Chiru T., Ciobanu C., Benea A. Plante din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2019, Tipogr. Print Caro: 10-23.
- Ciobanu N., Cojocaru-Toma M. Ciobanu C., Benea A. Evaluation of polyphenolic profile and antioxidant activity of some species cultivated in the Republic of Moldova, *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 2019: 441-447.
- Nwafor I., Shale K., Achilonu M. Chemical composition and nutritive benefits of Chicory (*Cichorium intybus*) as an ideal complementary and/or alternative livestock feed supplement, *Scientific World Journal*, 2017; (11): 11-23.
- Chiru T. Phytochemical study of *Centaurea cyanus* L. *Scientific Papers, USAMV Bucharest, Series A, Vol. LII*, 2009: 293-297.
- Ciobanu C., Diug E., Calalb T., Tomuța I., Achim, M. Optimizarea metodei de extracție cu ultrasunet a principiilor active din specia *Cynara scolymus* L. *Curierul Medical*. Chișinău, 2015; 58 (2): 23-28.
- Abbas Z., Saggi S., Sakeran M. Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of Chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2015; 22 (3): 322-326.
- Ciobanu C., Calalb T., Diug E. Totalul polifenolic în produsul vegetal *Cynarae folia* recoltat în Republica Moldova. *Anale științifice*

the extraction of chemical compounds, assisted by ultrasound, maceration, and different concentrations of reagents, in the optimal extraction of active principles.

Study of the pharmacological activity of plant extracts, performed *in vitro* and *in vivo*, by researching the antioxidant potential (DPPH, ABTS and FRAP method); antimicrobial (method of serial dilutions in liquid nutrient medium); anti-inflammatory (induction of hind paw edema in rats) and determination of viability and cytotoxicity on isolated hepatocytes with MTT reagent, indicates that the plants and vegetal products from the collection can serve as a source of raw material for the pharmaceutical industry.

Conclusions

1) The Scientific-Practical Center in the Field of Medicinal Plants of *Nicolae Testemitanu* SUMPh can serve to bioconserve medicinal plants from spontaneous flora, as well as rarest and endangered ones, by introducing them in culture.

2) The Center serves as an educational edifice both for students of the Faculty of Pharmacy as well as other institutions with medical, pharmaceutical, biological profile, through the popularization of science, rational use of medicinal plants, as well as the perspective of using the plant collection as a scientific basis and exchange experience.

3) The medicinal plants from the collection of SPCFMP of *Nicolae Testemitanu* SUMPh can serve as a source of raw material for the local pharmaceutical industry in order to obtain new phytotherapeutic products.

Authors` contribution

All authors contributed equally to the study and elaboration of the manuscript.

Declaration of conflicting interests

All authors declare no conflict of interest or any financial or non-financial support for the submitted work.

- ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2012; vol. 1. ed. XIII-a: 310-313.
13. Cojocaru-Toma M., Ancuceanu R., Soloviov M., Babileva A. Spectrophotometric analysis of flavonoids in herbal products and extracts from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*. *The Romanian National Congress of Pharmacy-17th edition*, Bucharest, Romania, Filodiritto Editore-Proceedings, 2018: 58-63.
 14. Чобану К., Дюг Е., Калалб Т., Чобану Н., Унгуряну И., Дюг О. Артишок колющий *Cynara scolymus* L. перспективное лекарственное растение для Республики Молдова. *Материалы всеукраинской научно-практической конференции с Международной участием „Применение методов лечения и атипипрепаратов в медицинской, фармацевтической и косметической практике”*. Харьков, 2018: 74-78.
 15. Benea A., Goncariuc M. *et al.* Study of volatile oil from aerial parts of *Hypericum perforatum* L. by GC-MS. *Phytochemical society of Europe meeting*. Book of abstracts. Chisinau, 2018: 37.
 16. Benea A. *et al.* Conținutul și componența uleiului esențial la specii de *Hypericum* L. din flora spontană a Republicii Moldova. *Buletinul academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții*. V 2 (320), Chișinău, 2013: 87-93.
 17. Cojocaru-Toma M., Nistoreanu A., Ciobanu N., Crișan G. Studiul acțiunii antioxidante a unor plante medicinale din colecția CȘCPM USMF „Nicolae Testemițanu” prin utilizarea testului DPPH. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*, 2015; (1): 208-213.
 18. Muruzovic M. *et al.* Extracts of *Agrimonia eupatoria* L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. *J. Food Drug Anal*, 2016; 24 (3): 539-547.
 19. Chiru T., Antognoni F., Poli F., Nistoreanu A., Benea A. The antioxidant and anti-inflammatory activity of *Centuarea cyanus* L. extracts. *Phytochemicals in medicine and Pharmacognosy*. Piatra-Neamț, România, 27-30 aprilie, 2014, Book of abstracts: 31-33.
 20. Chiru T., Bacalov I., Nistoreanu A. Activitatea antiinflamatorie a extractelor din specia *Centaurea cyanus* L. *Anale Științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice, Zilele Universității 16-18 octombrie, ed. XIV-a Chișinău, 2013: 416-418.
 21. Benea A., Prisacari V. *et al.* Acțiunea antibacteriană și antifungică a uleiului volatil din *Hypericum perforatum* L. din flora Republicii Moldova. *Revista farmaceutică a Moldovei*, Chișinău, 2016: 88-90.
 22. Ciobanu C., Diug E., Ciobanu N., Balan G., Tomuta I. Antimicrobial evaluation of *Cynara scolymus* L. leaves extracts. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. Abstracts of the 22th International Congress Phytopharm 2018, 25-27 June, Horgen, Switzerland, 2018: 22.
 23. Cojocaru-Toma M., Parii S. *et al.* Determination of acute toxicity for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, *MJHS*, 2018; 16 (2): 35-43.