

Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris

C.Z.U: 615.322:582.998.4:577.1(043.2)

FULGA Ala

**ACTIVITATEA BIOCHIMICĂ A EXTRACTELOR DIN SPECIA *TARAXACUM
OFFICINALE* G.H. WEBER ex WIGGERS**

315.01 – BIOCHIMIE MEDICALĂ

Teză de doctor în științe medicale

Chișinău, 2023

Teza a fost elaborată în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică, Laboratorului de biochimie și Centrului științific al medicamentului a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Școala doctorală în domeniul Științe medicale

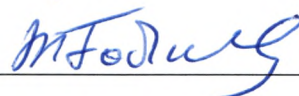
Conducător

Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Conducător prin cotutelă

Todiraș Mihail,
dr. hab. șt. med., conf. cercet.



Membrii comisiei de îndrumare:

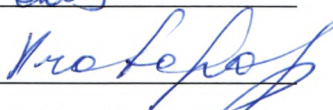
Gudumac Valentin,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Andronache Lilia,
dr. șt. med., cercet. științ.



Protopop Svetlana,
dr. șt. med., conf. univ.



Susținerea va avea loc la 29.08.2023, ora 14:00, în incinta USMF „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205 în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 28.06.2023 (*proces verbal nr.11*).

Componenta Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Parii Sergiu,
dr. hab. șt. med., conf. cercet.

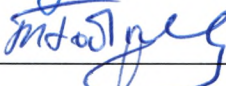


Membrii:

Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Todiraș Mihail,
dr. hab. șt. med., conf. cercet.



Globa Pavel,
dr. șt. chim., conf. univ.



Referenți oficiali:

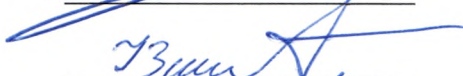
Gudumac Valentin,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Lîsîi Dan,
dr. șt. med., conf. univ.

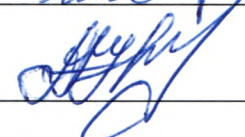


Bulimestru Ion,
dr. șt. chim., conf. univ.



Autor

Fulga Ala



CUPRINS

LISTA ABREVIERILOR	5
LISTA FIGURILOR	6
LISTA TABELELOR	7
INTRODUCERE	9
1. <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> – COMPOZIȚIA CHIMICĂ, EFECTE ȘI MECANISME DE ACȚIUNE	14
1.1 Caracteristica generală a speciei <i>Taraxacum</i>	15
1.2 Compoziția chimică a <i>Taraxacum officinale</i>	15
1.3 Conținutul substanțelor bioactive în funcție de partea plantei, arealul geografic și tipul extractantului	18
1.4 Activitatea <i>Taraxacum officinale</i>	22
2. MATERIALE ȘI METODE DE STUDIU A CONȚINUTULUI EXTRACTELOR DIN <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> ȘI MECANISMELOR LOR DE ACȚIUNE	38
2.1 Metodologia generală a cercetării	38
2.2 Pregătirea materialului și metodele biochimice de investigație	38
2.3 Studiul experimental al compoziției și efectelor extractelor din <i>Taraxacum officinale</i>	40
2.4 Analiza statistică a rezultatelor	42
3. COMPONENTA CHIMICĂ A EXTRACTELOR DIN <i>TARAXACUM OFFICINALE</i>	43
3.1 Material și metode	43
3.2 Conținutul de CTF, CTP, fitosteroli și acizi hidroxicorici în extractele pe bază de DMSO și etanol din frunze și rădăcini din <i>Taraxacum officinale</i>	46
3.3 Studiul comparativ al compoziției chimice al <i>Taraxacum officinale</i>	48
4. INFLUENȚA EXTRACTELOR DIN <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> ASUPRA SISTEMULUI ANTIOXIDANT ENZIMATIC ȘI HOMEOSTAZIEI TIOL-DISULFIDICE	51
4.1 Material și metode	51
4.2 Rezultatul acțiunii extractelor din <i>Taraxacum officinale</i> asupra sistemului antioxidant și homeostaziei tiol-disulfidice.....	54
4.3 Studiul comparativ al acțiunii extractelor din <i>Taraxacum officinale</i> asupra sistemului antioxidant enzimatic și homeostaziei tiol-disulfidice	63
5. POTENȚIALUL ANTIRADICALIC, ANTIOXIDANT TOTAL ȘI ACȚIUNEA EXTRACTELOR DIN <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> ASUPRA MARKERILOR STRESULUI OXIDATIV	69
5.1 Material și metode	70

5.2	Rezultatele evaluării acțiunii <i>Taraxacum officinale</i> asupra potențialului antiradicalic, antioxidant total și markerilor stresului oxidativ	73
5.3	Evaluarea comparativă a acțiunii antiradicalice a extractelor din <i>Taraxacum officinale</i>	90
6.	ACȚIUNEA EXTRACTELOR DIN <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> ASUPRA VIABILITĂȚII CELULARE	96
6.1	Material și metode	96
6.2	Rezultatul acțiunii compușilor de referință și a extractelor din <i>Taraxacum officinale</i> asupra viabilității celulare	100
6.3	Studiul comparativ al acțiunii antitumorale a extractelor din <i>Taraxacum officinale</i>	108
	SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	113
	CONCLUZII GENERALE	118
	RECOMANDĂRI PRACTICE	119
	BIBLIOGRAFIE	120
	ANEXE	134
	INFORMAȚII PRIVIND VALORIFICAREA REZULTATELOR CERCETĂRII	162
	CURRICULUM VITAE	181
	DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	184

Lista abrevierilor

ABTS	- Acid 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic)
AC	- Acid caftaric
ACG	- Acid clorogenic
ACh	- Acid cicoric
Ahx	- Acizi hidroxicorici
AMA	- Activitatea medie a antioxidanților
CAT	- Catalaza
CTF	- Conținutul total de flavonoizi
CTP	- Conținutul total de polifenoli
DAM	- Dialdehida malonică
DMSO	- Dimethyl sulfoxide
DOXO	- Doxorubicina
DPPH	- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EtOH (20, 50, 80%)	- Etanol 20, 50, 80%
FEtOH (20, 50, 80%)	- Extract de frunze pe etanol de 20, 50, 80%
FDMSO	- Extract de frunze pe DMSO
FRAP	- Puterea antioxidantă reducătoare a fierului
Fts	- Fitosteroli
GPx	- Glutation peroxidaza
GR	- Glutation reductaza
GSH	- Glutation redus
GSSG	- Glutation oxidat
GST	- Glutation S-transferaza
MSA	- Masa substanțelor antioxidante
NO	- Radicalul oxid nitric
NOS	- Nitric oxid sintaza
RDMSO	- Extract de rădăcini pe DMSO
REtOH (20, 50, 80%)	- Extract de rădăcini pe etanol de 20, 50, 80%
SO	- Stres oxidativ
SOD	- Superoxid dismutaza
SRO	- Specii reactive de oxigen
TAC	- Capacitatea antioxidantă totală
TEAC	- Capacitatea de antioxidant echivalent-Trolox
TO	- <i>Taraxacum officinale</i>
TOF	- <i>Taraxacum officinale</i> frunze
TOR	- <i>Taraxacum officinale</i> rădăcini

Lista figurilor

Figura 1.	Structurile chimice ale celor mai reprezentativi compuși din componența TO. Schemă adaptată după Gonzalez-Castejon <i>et al.</i> (2012)	16
Figura 2.	Design-ul cercetării	39
Figura 3.	Curba de calibrare a DHQE, mg/mL	44
Figura 4.	Curba de calibrare a β -sitosterolului, mg/mL	45
Figura 5.	Cromatogramele obținute la analiza materiei prime de păpădie	45
Figura 6.	Ciclul enzimatic redox pentru determinarea cantitativă a glutationului total și oxidat cu ajutorul protocolului spectrofotometric cu DTNB după Tietze (1969)	53
Figura 7.	Dinamica modificării conținutului de -SH liberi (%) față de proba martor – la acțiunea extractelor DMSO și etanolice ale frunzelor și rădăcinilor de TO.	59
Figura 8.	Dinamica modificării conținutului total de -SH (%) față de proba martor la acțiunea extractelor DMSO și etanolice ale frunzelor și rădăcinilor de TO	60
Figura 9.	Modificarea nivelului formelor de glutation ca urmare a acțiunii extractelor de TO	61
Figura 10.	Structura chimică a compușilor de referință, Rutina și Troloxul	70
Figura 11.	Testul reducerii radicalului ABTS la imediata măsurare – cele mai efective 10 probe	79
Figura 12.	Liderii procesului de inhibiție a ABTS după 15 minute de incubare.....	79
Figura 13.	Capacitatea de reducere a ABTS după 30 minute de incubare – cele mai active probe	80
Figura 14.	Substanțele și extractele din TO cu cea mai înaltă activitate de reducere a radicalului ABTS, după timpul de incubare și concentrație	81
Figura 15.	Substanțele și extractele din TO cu cea mai joasă activitate de reducere a radicalului ABTS, după timpul de incubare și concentrație	81
Figura 16.	Formula de structură a Doxorubicinei	96
Figura 17.	Fazele de creștere a celulelor	98
Figura 18.	Reacția de reducere a MTT la Formazan	98
Figura 19.	Mecanismul de reducere a Resazurinei la Resorufin	99
Figura A19.20	Activitatea antitumorală (U-251 MG) a Doxorubicinei, precum și a extractelor din frunze și rădăcini de TO pe DMSO	155
Figura A20.21	Acțiunea extractelor foliare din TO pe etanol de diverse concentrații asupra viabilității celulelor U-251 MG	156
Figura A21.22	Acțiunea extractelor etanolice din rădăcini de TO asupra viabilității celulelor tumorale U-251 MG	157

Lista tabelelor

Tabelul 1.	Conținutul substanțelor biologice active în <i>Taraxacum officinale</i>	46
Tabelul 2.	Viabilitatea glioblastomului U-251 MG sub influența Doxo și extractelor foliare, radiculare din TO pe DMSO. Metoda MTT.....	101
Tabelul 3.	Activitatea antitumorală (U-251 MG) a extractelor etanolice din frunze de TO evaluată prin metoda MTT	102
Tabelul 4.	Acțiunea extractelor etanolice radiculare din TO asupra viabilității glioblastomului U-251 MG evaluată prin metoda MTT	103
Tabelul 5.	Viabilitatea celulelor U-251 MG evaluată prin testul cu Resazurină după incubare cu Doxo, extractele foliare și radiculare ale TO pe DMSO	105
Tabelul 6.	Acțiunea extractelor etanolice din frunze de TO asupra viabilității celulelor tumorale U-251 MG evaluată prin metoda cu Resazurină	105
Tabelul 7.	Acțiunea extractelor etanolice din rădăcini de TO asupra viabilității celulelor U-251 MG determinată prin metoda cu Resazurină	106
Tabelul A1.8	Influența extractelor din frunze de TO asupra sistemului antioxidant enzimatic ($X \pm DS$)	134
Tabelul A2.9	Acțiunea extractelor din rădăcini de TO asupra sistemului antioxidant enzimatic ($X \pm DS$)	135
Tabelul A3.10	Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra sistemului antioxidant enzimatic	136
Tabelul A4.11	Influența extractelor din frunze de TO asupra conținutului de tioli și glutation ($X \pm DS$)	137
Tabelul A5.12	Acțiunea extractelor din rădăcini de TO asupra conținutului de tioli și glutation ($X \pm DS$)	138
Tabelul A6.13	Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra conținutului de tioli și glutation	139
Tabelul A7.14	Activitatea enzimelor sistemului antioxidant în raport cu concentrația compușilor chimici testați	140
Tabelul A8.15	Valoarea markerilor homeostaziei tiol-disulfidice în raport cu concentrația compușilor chimici testați	141
Tabelul A9.16	Activitatea de reducere a radicalului ABTS a substanțelor de referință, Trolox și Rutina	142
Tabelul A10.17	Activitatea de reducere a radicalului ABTS a extractelor din TO	143
Tabelul A11.18	Influența extractelor din TO asupra capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și a activității medii a antioxidanților ($X \pm DS$)	145
Tabelul A12.19	Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și a activității medii a antioxidanților	146
Tabelul A13.20	Influența extractelor din TOF asupra indicilor stresului oxidativ....	147
Tabelul A14.21	Acțiunea extractelor din TOR asupra indicilor stresului oxidativ	148
Tabelul A15.22	Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra markerilor stresului oxidativ	149
Tabelul A16.23	Activitatea antiradicalică a extractelor din TO în funcție de concentrația compușilor	150
Tabelul A17.24	Capacitatea antioxidantă totală (TAC), masa substanțelor antioxidante (MSA) și activitatea medie a antioxidanților (AMA) în	

	funcție de concentrația compușilor chimici testați	153
Tabelul A18.25	Valoarea markerilor stresului oxidativ în raport de concentrația compușilor chimici testați	154
Tabelul A22.26	Activitatea antitumorală a extractelor din TO în funcție de concentrația compușilor.....	158

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei cercetate

Compușii naturali pot exercita funcții profilactice sau terapeutice, eficiența cărora a fost dovedită pe tot parcursul evoluției omenirii. În literatura de specialitate sunt descrise multiple substanțe, oferite generos de către natură, precum flavonoizii, carotenoidele, vitaminele, acizii fenolici (cafeic, ferulic, galic), care de unii singuri sau în combinație manifestă proprietăți antioxidante, antitumorale *etc.* [1]

Taraxacum officinale (TO) este una din plantele, a cărei conținut și aplicări terapeutice incită medicina modernă pentru investigații aprofundate în oncologie, imunologie, farmacologie, geriatrie, industria alimentară [2].

TO se caracterizează printr-un conținut vast de compuși bioactivi. Această plantă a fost remarcată pentru conținutul înalt de carotenoide, precum, luteina și violaxantina. Din grupul cumarinelor TO conține esculetina și scopoletina, iar din flavonoizi, TO încorporează apigenin-7-glucozida, luteolin-7-glucozida, izoramnetin 3-glucozida, luteolin-7-diglucozida, quercetin-7-glucozida, quercetina, luteolina, rutina și crizoeriolul. Din cadrul compușilor fenolici au fost descriși acizii cafeic, clorogenic, cicoric (acid dicafeoiltartaric), γ -hidroxifenilacetic, 4-cafeoilchinic, p-cumaric, ferulic, p-hidroxibenzoic, protocatehic, vanilic, seringic, p-hidroxifenilacetic (și derivatul său β -O-[4-O-(p-hidroxifenilacetil)]- β -D-glucopiranozil]- β -hidroxi- γ -butirolactona), umbeliferona, benzil-O- β -glucopiranozida, dihidroconiferina, seringina și dihidroseringina [3].

Din polizaharide au fost remarcați glucanii, mananii și inulina. Conținutul înalt de lactone sesquiterpene (LS) aparținute guanolidelor, precum taraxacina (acidul taraxinic sau lactucopicrina), acidul taraxinic-D-glucopiranozid, acidul 11 β ,13-dihidrotaraxinic-D-glucopiranozid, acidul p-hidroxifenilacetic, β -sitosterol), 11 β ,13-dihidrolactucin și cicorina conferă totodată și gustul amăruit al TO. Lista de LS devine mult mai variată dacă vom lua în calcul și guanolidele (11Z, 13-dihidrolactucin, ixerina D), germacranolidele, precum, acidul taraxinic D-glucopiranozid, esterul acidului taraxinic 1-glucozil, acid 11, 13-dihidrotaraxinic l'-glucozidul și eudesmanolidele, cum ar fi 4 α ,11 β , 13,15-tetrahidroridentin B și taraxacolid-O-Z-glucopiranozida. Lista acestor compuși merită de a fi suplinită cu glicozide fenilpropanoice, cum sunt dihidroconiferina, seringina și dihidroseringina, un glicozid cianogenic, prunasin, precum și un γ -butirolactonă glicozid acilată, taraxacozida. Din grupul rășinilor TO conține taraxacerin (sau taraxacrona). Din grupul sterolilor, TO conține taraxasterol, β -taraxasterol (inclusiv derivații acetati și 16-hidroxi arnidol și faridol), Z-taraxasterol, homotaraxasterol, Z-sitosterol, stigmatsterol și campesterol, α - și β -amirin, β -sitosterol, β -sitosterol-D-glucopiranozid,

triterpenic 3 β -hidroxilup-18(19)-en-21-onă. O altă clasă de compuși, prezentă în TO sunt triterpenele, precum Y-amirin, Z-amirin, lupeol, taraxol, cicloartenol, 3Z-hidroxilup-18(19)-en-21-onă, arnidiol și faradiol. Totodată, această plantă propune omenirii un șir de compuși ai căror beneficiu încă este puțin studiat, cum ar fi letucenina A și proteinaza serinică taraxalizin, colina, mucilagiu și pectine [2].

Complexitatea problemei ce ține de compoziția chimică a TO este susținută de studii multiple, cu rezultate frecvent contradictorii, datorită utilizării diverselor părți anatomice ale plantei, arealului de creștere și metodelor utilizate în extragerea compușilor bioactivi.

Fiind considerată o simplă buruiană, aceasta grație componenților chimici și-a dovedit eficacitatea nu numai în medicina tradițională, dar și în calitate de sursă generoasă de substanțe cu funcție antitoxică, antioxidantă, antitumorală în multiple cercetări contemporane [4–7]. Benefice pentru sănătate s-au dovedit a fi toate părțile componente ale plantei: rădăcina, frunzele, tija, floarea și semințele, al căror conținut este extrem de variabil, impunând indicarea în studii a condițiilor climaterice, anotimpului de recoltare, a calității solului, a tipului extractantului și timpului (durata) de extragere [8].

Grație spectrului larg de compuși bioactivi, numărul de efecte terapeutice realizate de TO, este impunător. Acțiunile cunoscute la moment caracterizează TO ca un remediu eficient antiinflamator, antioxidant, hipoglicemiant, hipolipidemiant, anticoagulant, prebiotic, antimicrobian, imunomodulator, hepatoprotector, colagog, diuretic, urolitic, analgezic, adaptogen, antidepresant, antihipertensiv, antiangiogenic, chemopreventiv și antitumoral [2]. Ultima, a fost demonstrată în cazul tumorilor de prostată, colon, ficat, glanda mamară, melanom, măduvă osoasă. La moment însă nu există date despre eficiența TO în cazul tumorilor derivate din sistemul nervos central (SNC), inclusiv glioblastom.

Această plantă a demonstrat eficiență terapeutică prin implicare în multiple mecanisme și acțiune asupra numeroase molecule de semnalizare, prezentând acțiuni inhibitorii sau stimulatorii.

Astfel TO s-a evidențiat prin blocarea producerii de citokine și enzime proinflamatorii, precum iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) și COX-2 (*cyclooxygenase-2*), a NO, secreției de IL-1, a factorului de necroză tumorală TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*), a speciilor reactive de oxigen (SRO), a producerii de leucotriene și prostaglandine, a activității mieloperoxidazei. Spectrul mecanismelor inhibitorii include de asemenea blocarea MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), ERK (*extracellular signal-regulated kinase*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*), a protein kinazei B, a chemotactismului și exploziei oxidative a neutrofilelor, inactivarea căii fosfatidilinositol-3-kinazei (PI3K)/Akt și subminarea translocării NF- κ B (*nuclear*

factor kappa B) [2]. La mecanismele inhibitorii au fost atribuite și diminuarea nivelului DAM (dialdehida malonică), a intensității peroxidării lipidelor și carbonilării proteinelor, inhibiția α -amilazei, lipazei, α -glucozidazei, a hexoaminidazei, micșorarea concentrației de sVCAM-1 (*soluble vascular cell adhesion molecule-1*), diminuarea expresiei membranare a complexului GPIIb/IIIa (PAC-1 binding), blocarea eliminării de P-selectină, inhibarea sintezei de colagen tip I și III, a expresiei markerilor BCL-2 (*B-cell lymphoma 2*), VEGF (*vascular endothelial growth factor*), TGF- β 1 (*transforming growth factor*), α -SMA (*smooth muscle alpha-actin*), GRP78 și GRP94 (*glucose-regulated proteins 78 and 94*), diminuarea conținutului plasmatic de AST, ALT, LDH și ALP, reducerea activității a două izoforme ale citocromului P450 (CYP1A2 și CYP2E) [3-8].

Printre mecanismele inhibitorii ale TO au fost descrise și diminuarea nivelului de fosforilare a FAC (*focal adhesion kinase*) și SRB (*sulforhodamine B*), blocarea activității metaloproteinazelor matriceale MMP-2 și MMP-9, a endotelinei-1 și oxidazei NADPH endoteliale, diminuarea nivelului seric de CRF (*corticotropin releasing factor*) [2,8].

La mecanismele de acțiune ale TO, cu efect stimulatv au fost descrise nivelurile crescute de HSP60 (*heat shock protein 60*), HSP 72, GSH, sporirea activității SOD, CAT, GR, GST, NADPH-citocrom P-450 reductazei, creșterea producerii de IFN- γ , IL-4, IL-10, metalotionină I/II, stimularea melanogenezei și inducerea apoptozei, prin inhibarea interacțiunii MKK7-TIPRL (*mitogen protein kinase kinase 7- TOR signaling pathway regulator-like protein*) și activarea fosforilării MKK7-JNK (*c-Jun NH2-terminal protein kinase*) [2,9].

Datorită multitudinii de componente chimice, conținutul cărora este influențat de diverși factori, rezultatele acțiunii TO asupra sistemelor enzimatice, antioxidant, stresului oxidativ, viabilității celulare nu sunt încă pe deplin cunoscute, frecvent contradictorii, ceea ce incită interesul și necesitatea efectuării cercetărilor în acest domeniu. Rezultatele prezentate în literatura de specialitate frecvent țin de o singură parte componentă a plantei, de un singur extractant și mecanism de acțiune. La moment lipsește un studiu comprehensiv, care ar pune în evidență și compara uni-momentan mai multe acțiuni ale extractelor de TO, realizate din diverse părți componente ale plantei cu diverși solvenți. Totodată nu au fost raportate date referitor la eficacitatea TO în tumori gliale.

În baza celor expuse au fost trasate scopul și obiectivele generale ale tezei.

Scopul: studiul compoziției chimice și a acțiunii *in vitro* a extractelor din TO în vederea elucidării mecanismelor biochimice de acțiune și a potențialului terapeutic.

Obiectivele:

1. Determinarea componenței chimice a extractelor din *Taraxacum officinale* prin cuantificarea conținutului total de flavonoizi, fenoli, fitosteroli și acizi hidroxicorici;
2. Evaluarea acțiunii extractelor din *Taraxacum officinale* asupra sistemului antioxidant și homeostaziei tiol-disulfidice;
3. Elucidarea potențialului aniradicalic al *Taraxacum officinale*, a capacității antioxidante totale, masei și activității medii a antioxidantilor și acțiunea asupra markerilor stresului oxidativ;
4. Studiul acțiunii extractelor din *Taraxacum officinale* asupra viabilității celulare în culturi de tumori gliale;
5. Stabilirea corelațiilor dintre conținutul chimic și mecanismul de acțiune ale extractelor din *Taraxacum officinale*.

Pentru realizarea scopului propus am determinat conținutul de flavonoizi, polifenoli și fitosteroli în extractele din frunze și rădăcini de TO pe DMSO și etanol de diferită concentrație, evaluând ulterior acțiunea acestora asupra sistemului antioxidant enzimatic, homeostaziei tiol-disulfidice, cu aprecierea potențialului antiradicalic, capacității antioxidante totale, masei și activității medii a antioxidantilor, markerilor stresului oxidativ și viabilității celulare.

Noutatea științifică și aprobarea rezultatelor.

A fost efectuat un studiu complex, uni-momentan care a permis detalierea și elucidarea mecanismelor biochimice ale acțiunii extractelor din *Taraxacum officinale* (TO).

Pentru prima dată a fost efectuată o analiză biochimică și statistică complexă care a aprofundat cunoștințele cu privire la efectele TO în dependență de organul plantei, tipul și concentrația extractantului, mecanismul de acțiune.

Grație acestui studiu a fost determinat că, extractele din TO posedă acțiune modulatorie asupra sistemului antioxidant, enzimatic și non-enzimatic.

În premieră am raportat că, deși TO acționează într-o manieră dependentă de timp și concentrație, raportul compușilor chimici este mai important, identificând în fiecare caz efectele stimulatorii sau inhibitorii.

Detalierea conținutului de acizi fenolici, în dependență de partea plantei și tipul extractantului de asemenea este o noutate științifică.

În cadrul fiecărui mecanism studiat, antioxidant, antiradicalic, antistres și antitumoral pentru prima dată a fost cuantificat conținutul de CTF, CTP, fitosteroli și acizi hidroxicinamici, astfel detaliind efectul modulatoriu al TO.

Cuvinte cheie: *Taraxacum officinale*, mecanisme biochimice, sisteme enzimaticice, stres oxidativ, sistem antioxidant, glioblastom, viabilitatea celulară.

Proiectul științific de doctorat a fost avizat pozitiv în cadrul Comitetului de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” (procesul verbal nr.3, la nr.14 din 21.11.2019).

Lucrarea a fost realizată în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică, Laboratorului de biochimie și Centrului științific al medicamentului a USMF „Nicolae Testemițanu”. Rezultatele lucrării au fost discutate și aprobate în cadrul ședinței Comisiei de îndrumare de comun cu colaboratorii Catedrei de biochimie și biochimie clinică și Laboratorului de biochimie (procesul verbal nr.19 din 26.05.2023), precum și în cadrul ședinței Seminarului științific de profil 312. Fiziologie, 315. Biochimie și biologie moleculară, specialitățile 312.01. Fiziologie normală și patologică, 315.01. Biochimie medicală, 315.02. Biologie moleculară și genetica medicală (din 13.06.23).

1. *TARAXACUM OFFICINALE* – COMPOZIȚIA CHIMICĂ, EFECTE ȘI MECANISME DE ACȚIUNE

Chimia ca știință a înregistrat în ultimii ani o dezvoltare explozivă, fiind orientată din ce în ce mai mult spre obținerea unor compuși cu structură complexă, cu importante aplicații practice în medicină, industria chimică, farmaceutică și cea alimentară. Identificarea și elucidarea structurii și proprietății acestor compuși a impus necesitatea utilizării exhaustive a metodelor fizico-chimice și biochimice moderne de investigare a structurii, reactivității, efectelor biologice ale compușilor organici.

Una din problemele societății moderne reprezintă creșterea incidenței tumorilor. Anual la nivel global sunt înregistrate cca 10 milioane de decese provocate de cancer [10]. Afecțiunile neoplazice continuă să rămână o problemă dificilă a medicinei contemporane, caracterizată prin indici în creșterea morbidității și mortalității. În pofida utilizării multiplelor tipuri de chimioterapii și abordări chimio-preventive, tumorile rămân a fi lideri al afecțiunilor soldate cu deces.

Companiile farmaceutice dezvoltă diverse preparate antitumorale, care de rând cu efectul benefic pentru pacient posedă și multiple caracteristici adverse, precum mutagenitate, carcinogenitate, teratogenitate, mielosupresie, imunosupresie, toxicitate cardiacă, pulmonară, hepatică, renală, etc. [11]. Astfel, dezvoltarea de noi agenți chimioterapici rămâne a fi o temă actuală, iar dezvoltarea de noi substanțe cu acțiune antitumorală, care ar putea să exercite acțiune antiproliferativă și citotoxică țintită, exclusiv asupra celulelor neoplazice, rămâne a fi o provocare pentru contemporaneitate. Istoria a dovedit, că în multe cazuri dificile soluția adecvată a fost propusă de natura însăși. Planta a cărei conținut și acțiune incită medicina și la momentul de față este *Dandelion-ul / Taraxacum officinale (TO) / Păpădia*.

Pentru prima dată denumirea de *Taraxacum* a fost menționată în secolul al XI-lea la Serapion și Avicenna, iar utilizarea acesteia a depins în mare măsură de areal și anotimpul de colectare. Drept exemplu, în Germania, în secolul al XVI-lea păpădia a fost folosită în calitate de remediu sedativ, iar în medicina populară rusă această plantă a fost mult timp considerată „elixirul vieții” [12].

Denumirea de *Dandelion*, derivă de la *Leontodon*, combinație a *leon* (leu) și *odontis* (dinte), datorită faptului că frunza este adânc penat-fidată, cu lobi triunghiulari, asemănători dinților [4]. Referitor la denumirea genului acceptată actualmente, *Taraxacum*, sunt mai multe opinii. Conform datelor din literatură, aceasta derivă de la cuvântul *Tarakshagan*, care desemna în vechime la medicii arabi o afecțiune oculară pe care o tratau cu latexul prezent în plantă. Altă opinie are ca sursă limba greacă, unde „*taraxos*” înseamnă tulburare, iar „*akos*” remediu.

1.1 Caracteristica generală a speciei *Taraxacum officinale*

Planta medicinală *Taraxacum officinale* G.H. Weber ex Wiggers este membră a familiei *Asteraceae*. Produsul vegetal este reprezentat din porțiunile subterane (radex) – rădăcini, și aeriene (frunze, floare, semințe (fructul)), ambele având gust amar datorită compoziției chimice [13].

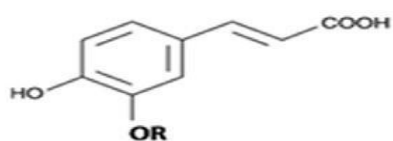
TO este o planta perenă mica, ierboasă, vivace. Rădăcina este pivotantă, puțin ramificată, ajungând uneori la 15-30 cm lungime și la 1-2 cm grosime. Rădăcina este albă la interior și brun-deschis la exterior. Frunzele sunt lanceolate, dințate, dispuse în rozetă. Din mijlocul rozetei derivă o tulpină tubulară, care în vârf poartă un capitul floral de 2-2,5 cm, de culoare galben-aurie. Florile sunt ligulate. Fructele sunt achene, cu rostrul de 3 ori mai lungi decât ele, ce poartă un papus alb, lung, care se dezvoltă în perioada fructificației, dând capitulului o formă globuloasă. Întreaga plantă conține un suc lăptos (latex).

Inflorescența se dezvoltă obișnuit în luna mai, însă plante înflorite pot fi întâlnite până în toamnă. Productivitatea unei plante variază la 200-7000 de semințe. Păpădia înflorește în R. Moldova din luna aprilie până în septembrie. Rădăcinile și frunzele proaspăt strivite elimină un lichid lăptos, cu gust amar. Florile finisează ciclul prin formarea de semințe, cu un trunchi de fire de perișori albi la bază. Această plantă se adaptează ușor la condițiile climaterice pe timp de secetă și înghețuri, ceea ce include TO în categoria buruienilor nedorite în plantațiile agricole [14]. În prezent este cultivată în scopuri medicinale și în calitate de sursă comestibilă, colectată fie în sălbătăcie, fie în cadrul sistemului de agricultură ecologică. Principalele țări europene care cultivă și extind pe scară largă ca produs păpădia sunt Bulgaria, România, Ungaria și Polonia. În scopuri medicinale și în alimentație sunt utilizate florile, frunzele, tulpinile (tije) și rădăcinile. Ultimele sunt recoltate preferențial în primele luni de primăvară sau toamna (septembrie – noiembrie), când conținuturile de taraxacină și inulină sunt crescute.

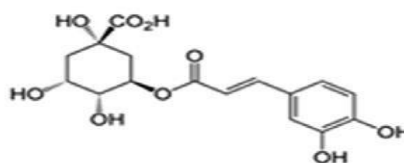
1.2 Compoziția chimică a speciei *Taraxacum officinale*

TO se caracterizează prin compoziție variată ca clase de compuși și reprezentanți individuali (figura 1). Această plantă a fost remarcată pentru conținutul înalt de carotenoide, precum, luteina și violaxantina [15]. Din cumarine Budzianowski J. (1997) a determinat în TO esculetina și scopoletina [16]. În TO a fost identificat un spectru vast de flavonoizi, precum apigenin-7-glucozida, luteolin-7-glucozida, izoramnetin 3-glucozida, luteolin-7-diglucozida, quercetin-7-glucozida, quercetina, luteolina, rutina și crizoeriolul [17].

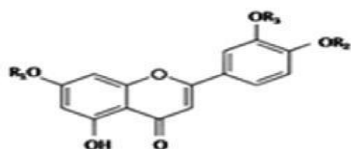
A) General structures and substitution patterns of Phenolic Acids and Flavonoids of *Taraxacum*



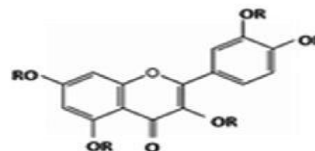
Caffeic acid $R_1=OH$
p-coumaric acid $R_1=H$



Chlorogenic acid

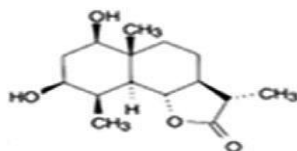


Luteolin $R_1=R_2=R_3=H$
Luteolin-7-O-rutinoside $R_1=Rut$ $R_2=H$
Luteolin-7-O-glucoside $R_1=Glc$ $R_2=H$
Luteolin-4'-O-glucoside $R_2=Glc$ $R_1=R_3=H$

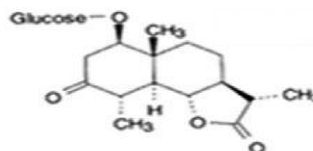


Quercetin glycosides
 $R=H$ and/or glucoside moiety

B) Chemical structures of some Sesquiterpenes Lactones of *Taraxacum*

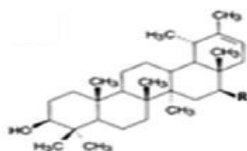


Tetrahydroidentin B

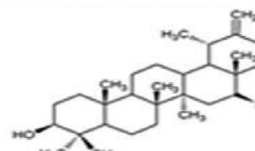


Taraxacolid-β-D-glucosid

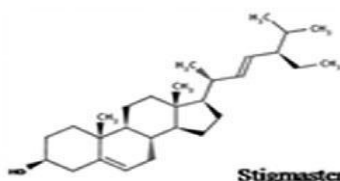
C) Chemical structures of some Triterpenes and Phytosterols of *Taraxacum*



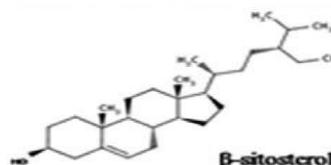
ψ-Taraxasterol $R=H$
Faradiol $R=OH$



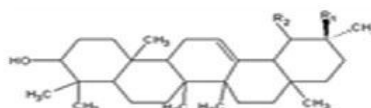
Taraxasterol $R=H$
Arniadiol $R=OH$



Stigmasterol



β-sitosterol



β-Amyrin $R_1=CH_3$ $R_2=H$
α-Amyrin $R_1=H$ $R_2=CH_3$

Figura 1. Structurile chimice ale celor mai reprezentativi compuși din componența TO. Schemă adaptată după Gonzalez-Castejon *et al.* (2012) [2]

După Shutz *et al.* (2005) această plantă reprezintă o sursă promițătoare și de acizi fenolici: cafeic, clorogenic, cicoric (acid dicafeoiltartaric) și izomerul său monocafeoiltartaric, acizii γ -hidroxifenilacetic, 4-cafeoilchinic, *p*-cumaric, ferulic, *p*-hidroxibenzoic, protocatehic, vanilic, seringic, *p*-hidroxifenilacetic (și derivatul său β -O-[4-O-(*p*-hidroxifenilacetil)]- β -D-glucopiranozil]- β -hidroxi- γ -butirolactona), umbeliferona, benzil-O- β -glucopiranozida, dihidroconiferina, seringina și dihidroseringina [18].

Din polizaharide au fost remarcate de Singh *et al.* (2008) glucanii, mananii și inulina [19]. Gustul amăruș al plantei după Kuusi *et al.* (1985) se datorează conținutului înalt de LS aparținente guanolidelor, precum taraxacin (acid taraxinic sau lactucopicrin), acid taraxinic-D-glucopiranozid, acid 11 β ,13-dihidrotaraxinic-D-glucopiranozid, acid *p*-hidroxifenilacetic, β -sitosterol), 11 β ,13-dihidrolactucin și cicorin [19,20].

TO conține o substanță cristalină, de asemenea cu gust amăruș, din grupul rășinilor, taraxacerin (sau taraxacerona). Kisiel *et al.* (2000) au izolat un compus γ -butirolactonă glicozid acilată, taraxacozid [21]. Totuși lista de lactone sesquiterpene devine mult mai variată dacă vom lua în calcul și guanolidele (11Z, 13-dihidrolactucin, ixerin D), germacranolidele, precum, acid taraxinic D-glucopiranozid, esterul acidului taraxinic 1-glucozil, acid 11, 13-dihidrotaraxinic l'-glucozidul și eudesmanolidele, cum ar fi 4 α ,11 β , 13,15-tetrahidroridentin B și taraxacolid-O-Z-glucopiranozid. Westerman și Roddick (1981) au diversificat această listă cu un glicozid cianogenic, prunasin [22]. Lista acestor compuși merită de a fi suplinită cu glicozide fenilpropanoice, cum sunt dihidroconiferina, seringina și dihidroseringina.

Din grupul sterolilor, TO oferă taraxasterol, β -taraxasterol (inclusiv derivații acetati și 16-hidroxi arnidol și faridol), Z-taraxasterol, homotaraxasterol, Z-sitosterol, stigmatsterol și campesterol, α - și β -amirin, β -sitosterol, β -sitosterol-D-glucopiranozid, triterpenic 3 β -hidroxilup-18(19)-en-21-onă [19, 18].

O altă clasă de compuși, prezentă în TO sunt triterpenele: Y-amirin, Z-amirin, lupeol, taraxol, taraxasterol, cicloartenol, 3Z-hidroxilup-18(19)-en-21-onă, arnidol și faradiol [8].

Această plantă propune omenirii o serie de substanțe a căror beneficiu încă este puțin studiat, cum ar fi letucenina A și proteinaza serinică taraxalizin, colina, mucilagiu și pectine [23].

Complexitatea compoziției chimice a TO este amplificată prin studiul conținutului de substanțe chimice în funcție de partea plantei, arealul de creștere și metodele utilizate în extragerea compușilor bioactivi.

1.3 Conținutul substanțelor bioactive în organele plantei, în funcție de arealul geografic și tipul extractantului

Conform datelor furnizate de Liu *et al.* (2020) TO reprezintă o sursă promițătoare de flavonoizi [24]. Autorii au depistat cca 229 de flavonoizi în extractele crude din întreaga plantă. Conținutul acestora a fost estimat la 66.05 ± 1.89 mg/g în extractul crud, care la fermentare a crescut la 183.72 ± 2.24 mg/g.

Aremu *et al.* (2019) au determinat că conținutul substanțelor biologic active cu acțiune antioxidantă depinde de partea plantei [25]. Astfel **frunzele** s-au dovedit a fi mai bogate în polifenoli comparativ cu rădăcinile (4.35 ± 0.15 versus 1.14 ± 0.01 GAE/mg extract), fapt confirmat și în cazul flavonoizilor (23.17 ± 0.14 versus 3 ± 0.05 QE/mg extract).

În frunzele de TO au fost depistați următorii fenoli: luteolin-7-glucozida, luteolin 7-O-rutinozida, izoramnetin 3-O-glucozida, quercetina 7-O-glucozid, apigenina 7-O-glucozid, două luteolin-7-diglucozide, acid cicoric, acid clorogenic, acid monocatehice, acid tartaric, ciorina și esculina. Totuși cel mai mare conținut din fenoli în cazul părților aeriene a fost atribuit derivaților acidului hidroxicinamic, în particular esterilor acizilor cafeic (clorogenic, dicafeoiltartaric (acid cicoric), monocatehice) [26].

Simandi *et al.* (2002) utilizând extracția cu ajutorul aparatului Soxhlet au determinat în frunze cca 0.59% de β -amirin și 0.12% de β -sitosterol, deși și alți fitosteroli (stigmasterol, campesterol, cicloartenol, 24-metilen-cicloartanol, β -sitosterol) au fost identificați în concentrații mai mici [27].

Frunzele s-au dovedit a fi bogate în potasiu, fapt ce explică eficiența acestora în calitate de remediu diuretic. Tsiatas *et al.* (2002) au demonstrat că conținutul acestui microelement variază în limitele 30.37 - 47.73 mg potasiu/1 g masă vegetală [28]. În baza datelor furnizate de Barnes *et al.* (2007) reiese că, conținutul acestui microelement depinde de partea plantei, constituind 4.5% în frunze și 2.45% în rădăcini [15]. Queralt *et al.* (2005) utilizând ICP-AES (*Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*) au determinat 519 mg/L potasiu prin prepararea infuziei din 5 g de frunze de TO (recoltate în Spania), la 200 mL apă, la 70°C timp de 2 ore. Ulterior, prin aplicarea altei metode (*wavelength-dispersive x-ray fluorescence method*) autorii au constatat că într-un gram de materie vegetală se conțin 29.68 mg de potasiu. Astfel s-a dovedit, că potasiul din TO posedă solubilitate mai înaltă în infuzii, evaluată de cercetători la 67% [29]. Prin utilizarea a (*flame emission photometry*), Sogut *et al.* (2005) au identificat că conținutul de potasiu din rădăcini de TO (recoltate în Turcia) nu depinde de forma de prelucrare a materiei vegetale, constituind 310.22 mg/g în decoct și 340.90 mg/g în infuzii ($p > 0.05$).

Aceeași situație a fost înregistrată și în cazul sodiului, evaluat în decoct la 962.64 mg/g și 1059.61 mg/g în infuzie [30].

Părțile aeriene ale TO conțin un șir de microelemente, ale căror conținut după Keane *et al.* (2001) variază în plantele recoltate în SUA precum (mg/kg): Cd 0.55-3.11, Cr 2.83-61.72, Cu 2.10-58.41, Fe 61-3916, Mn 21.70-276.95, Ni 2.15-38.02, Pb 0.50-45.00, Zn 18.60-261.40 [31]. Analizând plantele din 13 regiuni ale Poloniei, Krolak (2003) a determinat că conținutul microelementelor variază în limite largi, precum Cd 0.04-0.27, Cu 1.5-8.7, Pb 3.3-175.3, Zn 7.9-103.6 (mg/kg) [32].

Rădăcinile de TO conțin un șir de sesquiterpene, precum eudesmanolide, (tetrahidroridentina B și taraxacolide-*O*- β -glucopiranozide), guaianolide (11 β ,13-dihidrolactucina și ixerina D), esterii germacranolidelor (acid taraxinic β -glucopiranozid și derivatul său acid 11,13-dihidrotaraxinic- β -D-glucopiranozid) și ainsliozide [21]. Adicional acestora, rădăcinile conțin o glicozidă γ -butirolactonă acilată sau taraxacozid, acid *p*-hidroxifenilacetic, benzil glucozid, dihidroconiferin, seringin și dihidroseringin. Porțiunea radiculară oferă 13 compuși fenolici: dintre care cantitativ predomină acidul cicoric, urmat de acidul hidroxicinamic, acidul dicafeoiltartaric și derivații săi, în particular esterii acidului cafeic și câțiva izomeri ai acidului cafeoilcincic cum ar fi acizii monocafeoiltartaric, 4-cafeoilcincic, clorogenic, cafeic, *p*-cumaric, ferulic, *p*-hidroxibenzoic, protocatehincic, vanilic, seringic și *p*-hidroxifenilacetic. Din cumarine au fost extrase umbeliferona, esculetin, scopoletin, cicorin și aesculin. Flavonoizi sunt și ei prezenți sub formă de luteolin, izoramnetin, apigenin și quercetin cu derivatele sale (rutinozide și pentozide) [17]. Cele menționate sunt diversificate cu triterpene și fitosterolii, precum taraxasterol și ψ -taraxasterol deopotrivă cu derivații săi (acetați și 16-hidroxi): arnidol, faradiol, α -amirin, β -amirin, β -sitosterol și stigmasterol [2]. Totodată nu lipsesc carbohidrații (inulina, fructoza, glucoza, zaharoza), carotenoizii (luteina), acizii grași (acidul miristic), colina, cca 1.1% de mucilagiu, pectine, vitamine și minerale [19].

Dacă la prima vedere mulți componenți se regăsesc în toate porțiunile plantei, conținutul acestora pare a fi totuși diferit. Sesquiterpenele, acidul taraxinic β -D-glucopiranozid, acidul 11,13-dihidrotaraxinic-D-glucopiranozid, acidul *p*-hidroxifenilacetic și β -sitosterolul, care conferă gustul amar, predomină cantitativ în frunze [20]. Conținutul de polifenoli s-a dovedit a fi mai mare în părțile aeriene ale plantei, frunze și flori, constituind cca 9.9 \pm 0.28g/100g extract, comparativ cu cantitatea infimă, de 0.086 \pm 0.003 g/100 g extract din rădăcini [2]. Acizii cicoric, hidroxicinamic, monocafeoiltartaric și clorogenic au fost determinați în toate organele plantei, în timp ce cumarinele, cicorina și aesculina, glicozidele flavonoide, precum luteolin-7-*O*-glucozida, luteolin-7-*O*-rutinozida, izoramnetin 3-*O*-glucozida, quercetin-7-*O*-glucozida, și apigenin-7-*O*-

glucozida au fost determinate doar în frunze. Din compușii fenolici majoritatea în frunze și flori o constituie derivații acidului hidroxicinamic, în particular esterii acidului cafeic, cum ar fi acizii clorogenic, dicafeoil tartaric (cicoric) și monocafeoil tartaric. Glicozidele flavonoide, precum luteolin-7-*O*-glucozida, luteolin-7-*O*-rutinozida, izoramnetin-3-*O*-glucozida, quercetin-7-*O*-glucozida și apigenin-7-*O*-glucozida au fost raportate în egală măsură în frunze și flori de TO, pe când luteolin-7-*O*-glucozida, două luteolin-7-diglucozide, luteolina și crizoeriolul, au fost caracterizate ca componente exclusive ale florilor [2]. Culoarea galbenă a florilor este datorată unui pigment carotenoid, care reprezintă un diester al taraxantinei (epoxid luteinic), din care motiv Booth V.H. în 1964 l-a denumit ca "taraxien". Ulterior Meléndez-Martínez *et al.* (2006) au inclus în palmaresul TO și alți izomeri ai epoxidului luteinic [33].

Conținutul de compuși bioactivi depistați în TO ar putea fi diferit de la un caz la altul, fiindcă modurile de preparare a extractelor și solvenții propuși de diverse echipe de cercetători pentru extragere au fost diferite.

Blumenthal *et al.* (1998) au propus pentru pregătirea infuziilor 1 lingură de produs vegetal (3-4 g) la o cană de apă [18]. Alte propuneri acceptate în farmacopei sunt extragere în etanol 60% (5.6-8.4:1, v/v), etanol de 30% (1:0.9-1.1; v/v sau 0.75:1; m/m), sau suc scurs din plante proaspăt înflorite (1:0.6-0.8 sau 1.75:1).

Studiind acțiunea TO, Popovic *et al.* (2001) au determinat că extractul cu etil acetat din flori în combinație cu CCl₄ (tetraclorura de carbon), extractele hidrice și cloroform din tijă, cu sau fără CCl₄, precum și extractele hidrice din rădăcini au cea mai joasă activitate antioxidantă [34].

Conform datelor lui Mišek *et al.* (2019) cea mai înaltă activitate antioxidantă a fost raportată în cazul frunzelor, unde dintre polifenoli majoritatea au constituit derivații luteolinei și acizii fenolici [6]. Analiza cantitativă a pus în evidență faptul că extractele pe acetonă de 30% sunt mai bogate în fenoli (0.535 mg/mL) în cazul frunzelor, pe când în cazul florilor cel mai înalt conținut de fenoli a fost determinat în extractele pe Triton X-100 (0.385 mg/mL). Analizând capacitatea antioxidantă prin testul DPPH, autorii au stabilit importanța extractantului: în cazul florilor extrase cu Triton X-100 aceasta a fost mai joasă (0.294 ± 0.012 mg TE/g DW (masa uscata)) decât în cazul florilor tratate cu acetonă (0.892 ± 0.005 TE/g DW). De menționat că, în cazul frunzelor tipul extractantului în acest test nu a avut importanță, raportat în extractele cu Triton X-100 ca 0.962 ± 0.004 mg TE/g DW și 0.950 ± 0.002 TE/g DW în extractele cu acetonă. Autorii au atras atenția și la metoda utilizată pentru analiza aceluiași mecanism de activitate: rezultatele dintre testele DPPH, acțiunea de reducere și testul CUPRAC au redus conținutul și activitatea antioxidantă a frunzelor vs flori într-o manieră diferită.

Datele raportate de Jedrejek *et al.* (2017), care au comparat frunzele și petalele, relevă că ultimele posedă activitate antioxidantă mai accentuată, explicată de autori prin conținutul mai înalt de flavonoizi [35]. Ulterior, aceiași autori au pus în evidență diferența dintre activitatea a 5 extracte din rădăcini de TO și mediul de acțiune. Astfel, în testul DPPH, rezultate net superioare ale activității de eliminare a radicalilor liberi (*free radical scavenging activity*) au fost descrise în cazul fracțiilor îmbogățite cu acizi hidroxicinamici, preferențial esterii acizilor cafeic, cumaric și ferulic [36]. Contrar, în plasmă, cel mai promițător rol de protector contra acțiunii oxidative a H₂O₂/Fe a fost descris în cazul fracției bogate în lactone sesquiterpene.

Date noi referitor la conținutul acestei plante au fost raportate recent de Lis *et al.* (2020), care au supus analizei minuțioase fructul (semințele) de TO [37]. Autorii în baza unei analize HR-QTOF-MS (*high resolution-quadrupole time of flight-mass spectrometry*) detaliate au identificat cca 30 de metaboliți, profilul fitochimic fiind dominat de flavonoizi și derivații acidului hidroxicinamic.

De rând cu polifenolii frecvent depistați, cum ar fi esterii acidului cafeic și flavonele, autorii au depistat o serie de derivați ai flavonelor, caracteristice acestei porțiuni din plantă, biflavonele filonotisflavone (2',8-biluteolin) și luteolin 3'-*O*-glucozida. Aceste substanțe conform datelor prezentate de Lone *et al.* (2016) posedă acțiuni citotoxice, antibacteriană, antivirală, antioxidantă și antiinflamatoare [38].

Suplimentar celor menționate, Choi *et al.* (2018) au determinat prezența câtorva flavolignani (tricin-lignan conjugați), cum ar fi calquiquelignan D/E și salcolin A/B în toate părțile componente ale plantei [39].

Importanța extractantului a fost redată și de González-Castejón *et al.* (2012), care au subliniat că extractele cu metanol posedă activitate antiinflamatoare mai pronunțată, comparativ cu alți solvenți [2].

Trebuie de notat, că compoziția chimică a TO este influențată de anotimpul în care este recoltată. Drept exemplu, conținutul de fructoză obținută prin conversie din inulină constituie 2% primăvara și 40% toamna [40]. Lactonele sesquiterpene responsabile de gustul amărui ating apogeul în frunze și tijă la coacere (primăvara-vara), iar în rădăcini toamna [2]. Din sterolii liberi, prezenți în frunzele de TO, recoltate primăvara-vara, sitosterolul are cel mai înalt conținut, urmat de stigmasterol și campesterol. Totuși, conținutul sterolilor metilați liberi s-a dovedit a fi mai înalt pe timp de iarnă, în timp ce esterii sitosterolului și cicloartenolului ating apogeul vara, fiind demonstrată corelația dintre conținutul acestora cu durata iluminării [22].

1.4 Activitatea speciei a *Taraxacum officinale*

Deși majoritatea componentelor bioactive din TO au fost izolate și identificate, activitatea biochimică a multora din compuși rămâne încă a fi elucidată sau concretizată, rezultatele din literatura de specialitate fiind contradictorii [3].

Acțiunea antiinflamatoare. Conform rezultatelor prezentate de Tita *et al.* (1993) extractele din rădăcinile de TO sau dovedit a fi efective în prevenirea edemului lăbuței șobolanului indus prin testul caragenan (*carrageenan*), realizat prin administrarea preventivă (100 mg/kg, 1 oră) intraperitoneală sau orală a extractului pe etanol de 80% [41].

Eficacitatea TO în tratamentul edemului urechii indus cu 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetat a fost demonstrat de Yasukawa *et al.* (1998), care au stabilit că extractele metanolice din frunze și rădăcini pot diminua inflamația cu 69%, și respectiv 51%, cele din flori cu 95% comparativ cu efectul *indometacinei* utilizată în calitate de control, evaluat la 96% [42].

Kashiwada *et al.* (2001) au menționat că extractele metanolice din rădăcinile de TO blochează semnificativ leucotrienele B4 produse de neutrofilele umane, activate cu calciu ionofor în calitate de agent inflamator [43]. Autorii totodată au menționat importanța tipului extractantului, indicând că extractele realizate cu etil acetat sau apă posedă activitate antiinflamatoare mult mai joasă, comparativ cu cele realizate pe metanol. Inhibiția de 86% a fost atribuită la două glucozide sesquiterpene: acizii 14-O-β-D-glucozil-11,13-dihidro-taraxinic și 14-O-β-D-glucozil-taraxinic.

Conform datelor furnizate de Hu *et al.* (2005) luteolin și luteolin-7-O-glucozida prezente în extractul de flori (<20 μM) din TO posedă capacitatea de a diminua inflamația prin blocarea producerii de citokine proinflamatorii de către iNOS și COX-2, a NO și prostoglandinei E2 de către macrofagele RAW264.7 stimulate prealabil cu LPS (lipopolizaharide) [44]. Mai mult, Koh *et al.* (2010) au stabilit că influența extractelor din frunze asupra iNOS, COX-2 și mediatori ai inflamației este dependentă de doză și are loc prin inactivarea MAPK [45]. Activitate similară a fost demonstrată și de Seo *et al.* (2005) în caz de pancreatită la șobolani, indusă cu colecistochinină [46]. Conform autorilor, decoctul hidric din frunze de TO administrat oral animalelor (10 mg/kg), urmat de injectarea subcutanată a colecistochininei la interval de 1, 3, 5 ore, timp de 5 zile a diminuat semnificativ raportul greutatea pancreasului/greutatea corpului, secreția de IL-6, a TNF-α și a crescut nivelurile de HSP60, HSP72. Mecanisme analogice au fost descrise și de Liu *et al.* (2011) în inflamații acute ale plămânilor la șoareci, induse cu LPS. Efectul protectiv al TO a fost demonstrat prin diminuarea conținutului de citokine proinflamatorii (TNF-α și IL-6) în lavajul bronhoalveolar după 6 ore de la provocarea inflamației

[47]. Autorii au relatat o diminuare a numărului de neutrofile și masei plămânilor după 24 ore de la administrarea de TO. Totodată, s-a menționat o diminuare a activității mieloperoxidazei (MPO) și creșterea activității SOD în parenchimul pulmonar. Acest efect a fost atribuit de către Shi *et al.* (2008) luteolinei, care printr-o serie de acțiuni sinergice, precum blocarea MAPK, ERK, protein kinazei B, chemotactismului și exploziei oxidative a neutrofilelor și-a subsemnat eficacitatea în afecțiunile pulmonare [48].

Acțiunea antiinflamatoare a extractului hidric din frunze de TO a fost recent demonstrat de Hu *et al.* (2017), utilizând celule RMMVECs (*rat mammary microvascular endothelial cells*) afectate inflamator prin administrarea de LPS [49]. Astfel extractele de TO în concentrația de 100 și 200 $\mu\text{g/mL}$ au inhibat semnificativ expresia TNF- α și ICAM-1 imediat după tratament, iar extractul de 10 $\mu\text{g/mL}$ după 8-12 ore. Rezultate similare au fost descrise de Jeon *et al.* (2017) la utilizarea profilactică a extractelor metanolice de TO (100 $\mu\text{g/mL}$ TO pentru 1 h) în cazul celulelor HUVECs (*human umbilical vein endothelial cells*) stimulate cu LPS [50]. Planta a blocat semnificativ interacțiunea endoteliocitelor cu monocitele, prin diminuarea expresiei unui șir de factori de adeziune și citokine proinflamatorii (*vascular cell adhesion molecule-1, monocyte chemoattractant protein-1, NF- κ B*), fără a afecta activarea MAPK.

Park *et al.* (2011) au concluzionat că, luteolina și acidul cicoric, doi din cei mai remarcabili constituenți ai TO, inhibă sinergic procesul inflamator prin inactivarea căii fosfatidilinositol-3-kinazei (PI3K)/Akt și blocarea translocării NF- κ B în celulele RAW264.7 stimulate cu LPS [51].

Într-un studiu publicat de Jackson *et al.* (2008), TO într-un mix de 7 ierburi și-a dovedit eficacitatea în inflamația colonului, diminuând semnificativ și sângerările rectale [52]. Deși etiologia colitei ulceroase nu este pe deplin cunoscută, iar tratamentul este frecvent unul imunosupresiv, ameliorarea a fost atinsă grație unui șir de acțiuni antiinflamatorii sinergice, precum inhibarea transcripției factorului proinflamator NF- κ B, supresia expresiei iNOS, COX-2, TNF- α , IL-1, IL-6, diminuarea nivelului oxidului nitric (NO), SRO, producerii de leucotriene și prostaglandine în mucoasa alterată.

Acțiunea antioxidantă. Producerea în exces de SRO este un mecanism declanșator în multiple procese fiziologice și patologice, precum tumorogeneza, ateroscleroza, îmbătrânirea, bolile neurodegenerative etc. [53]. Utilizarea antioxidantilor ar fi o posibilitate consecventă, logică, care ar preveni, trata sau reține dezvoltarea acestor stări patologice. TO și-a demonstrat eficacitatea în calitate de antioxidant în diverse experimente, *in vitro* și *in vivo*.

Sumanth *et al.* (2006) au confirmat că extractele hidro-alcoolice din rădăcini de TO (100 mg/kg) au crescut activitatea a unui șir de markeri ai sistemului antioxidant, cum ar fi SOD,

catalaza, peroxidaza, GSH și au redus peroxidarea lipidelor [54]. Hu și Kitts (2003) au determinat, că și extractele hidrice și cu etil acetat din flori de TO posedă activitatea antioxidantă [55]. Totodată, autorii au semnalat că aceste extracte au diminuat ruperea ADN-ului și oxidarea liposomilor fosfatidilcolin structurați, induse de radicalii peroxid. În opinia autorilor aceste proprietăți sunt datorate glucozidelor, luteolin și luteolin 7 - O-glucozida.

Extractul din flori de TO s-a dovedit a fi efectiv în oxidarea acidului linoleic și neutralizarea radicalilor hidroxil și superoxid, binecunoscuți pentru rolul nociv în lanțul stresului oxidativ [56]. Activitatea sinergică exercitată de TO cu Y-tocoferol față de difenilpicril-hidrazil (DPPH) a fost atribuită capacității de reducere a flavonoizilor și derivaților acidului cumaric, cu o activitate de reducere echivalentă la 40% a acidului ascorbic. Același extract din flori de TO și-a dovedit eficacitatea în atenuarea oxidării intracelulare indusă de radicalul-peroxid a clonei de macrofage RAW264.7. Eficacitatea extractului crud din flori în prevenirea acțiunii nocive a SRO și NO, a fost atribuită efectului cumulativ al acizilor clorogenic, cafeic și flavonelor, luteolin și luteolin 7-O-glucozid [44].

Jeon *et al.* (2008) utilizând extractele etanolice din frunze uscate de TO au demonstrat capacitatea de *scavenger* a radicalilor în testul DPPH, diminuarea nivelului intracelular de specii reactive de oxigen, activitate antiangiogenică în testele pe membrana corioalantoidă, inhibarea formării exsudatelor, diminuarea semnificativă a nivelului oxidului nitric și a numărului de leucocite în exsudatele provocate prin testul caragenan [57]. Autorii au descris și efectul inhibitor al TO asupra permeabilității vasculare și crampelor abdominale dezvoltate în testul cu acid acetic. Aceste extracte s-au dovedit a fi efective în supresia producerii de NO, iNOS și COX-2 în macrofagele stimulate cu LPS. Autorii au concluzionat, că frunzele de TO posedă acțiuni antiangiogenică, antiinflamatoare, antinociceptivă și antioxidantă.

Activități antiinflamatoare și antioxidantă au demonstrat și extractele etanolice din rădăcini de TO administrate în doza de 100 mg/kg *per os* șobolanilor cu edem de lăbuță indus prin testul caragenan [2]. De notat, că aceeași doză administrată peritoneal a manifestat eficacitate mult mai joasă.

Totuși, în literatură sunt date care prezintă rezultate contradictorii. Astfel Kim *et al.* (1999) prin tratarea cu decoct hidric din frunze de TO a macrofagelor peritoneale stimulate cu γ -interferon au determinat creșterea producerii de NO și iNOS, efect care a fost blocat selectiv cu inhibitorul protein kinazei C, staurosporina.

Hagymasi *et al.* (2000) au stabilit că TO acționează benefic asupra microsomilor din ficatul șobolanilor Wistar [58]. Liofilizatele hidrice, atât din frunze, cât și din rădăcini au diminuat nivelul DAM într-o manieră dependentă de doză. Extractul din frunze a exercitat acțiune

membranoprotectorie mai efectiv ($IC_{50}=0.55$ mg/mL), comparativ cu rădăcinile ($IC_{50}=1$ mg/mL). Extractele din TO pot stimula și activitatea NADPH-citocrom P-450 reductazei, chiar și în absența cofactorului NADPH. Și în acest caz, frunzele au dovedit eficacitate mai înaltă. Un alt tip de acțiune realizat de TO elucidat în literatură este abilitatea sa de a dona atomi de hidrogen, proprietatea de reducător (*reducing power property*) și capacitatea de eliminare a radicalilor. Conform datelor prezentate, abilitățile de donator de hidrogen, agent de reducere și de eliminare a peroxidului de hidrogen (H_2O_2) ale extractelor din frunze au corelat cu conținutul de polifenoli, mai mare de 3 ori decât în rădăcini [59].

Popovic *et al.* (2001) au stabilit acțiunile antioxidante ale florilor, frunzelor, tije și rădăcinilor prin măsurarea peroxidării liposomale a lipidelor indusă de Fe^{2+} și acidul ascorbic. Totodată toate tipurile de extracte din TO au arătat/demonstrat acțiunea antioxidantă a fulerenului [34]. Aceeași autori au determinat inhibarea producerii de radicali hidroxil de către extractele de TO, dintre care cele mai efective s-au dovedit a fi cele realizate pe bază de etil acetat și apă din flori, și cele hidrice din tijă. Efectul inhibitor al TO a fost descris și de Kaurinovic *et al.* (2003) în cazul extractelor din frunze cu cloroform, etil acetat și n-butanol sau eter din rădăcini [60].

Wojdilo *et al.* (2007) au menționat, că extractul din rădăcini pe metanol de 80% a fost cel mai efectiv în testul DPPH, din 32 de plante utilizate în studiu [61]. Pe de altă parte, extractul identic a demonstrat o activitate joasă în testele ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic acid) și FRAP (*ferric reducing antioxidant power*), în pofida unui conținut înalt de polifenoli (12.6 gallic acid equivalent (GAE)/100 g dry weight (DW)), fapt ce confirmă repetat importanța extractantului utilizat în studiu.

Activitatea de eliminarea a peroxinitritului NO_3^- (10 μ M) a extractelor din rădăcini de TO cu metanol (5 μ g/mL), măsurată prin oxidarea dihidrorodaminei 123 a fost raportată ca cea mai joasă (20%) din 28 de plante utilizate în studiu [62].

Activitatea antioxidantă a fost demonstrată și în experimentul prezentat de Sumanth și Rana (2006). Cunoscut este faptul, că administrarea a CCl_4 în doză de 1.5 mL/kg șobolanilor liniei Wistar produce standard efecte hepatotoxice. Utilizarea profilactică *per os* a extractului din rădăcini de TO pe etanol de 70% (100 mg/kg) a îmbunătățit semnificativ nivelurile de SOD, CAT, GSH și peroxidază (PO) [63].

Yoo *et al.* (2009), utilizând celule V79-4 tratate cu H_2O_2 (1 mM), au caracterizat TO ca o sursă promițătoare de antioxidanți activi în eliminarea radicalilor superoxizi [64].

Jedrejek *et al.* (2019) au depistat că extractele din rădăcini de TO modifică indicii stresului oxidativ în plasmă doar după acțiunea preliminară a unui oxidant, cum ar fi H_2O_2/Fe [36]. Extractele din TO au diminuat peroxidarea lipidelor începând cu doza de 5 $\mu g/mL$, iar cel mai pronunțat efect a fost descris la concentrația de 50 $\mu g/mL$. De asemenea autorii au explicat diminuarea carbonilării proteinelor și protecția tiolilor proteici contra acțiunii dăunătoare a oxidanților. Trebuie de subliniat faptul, că aceste acțiuni depind de componența extractelor. Astfel, în cazul a 2 extracte, îmbogățite cu lactone sesquiterpene și acizi cafeoiltartarici, activitate antioxidantă marcată a fost evaluată în concentrațiile 5–50 $\mu g/mL$, iar în cazul extractelor în care au predominat esterii hidroxifenilacetat-inositol, cea mai înaltă activitate a fost descrisă la doze mici, în limitele 0.5–5 $\mu g/mL$.

Aremu *et al.* (2019) au stabilit că activitatea antioxidantă a TO depinde de partea plantei, explicat prin conținutul diferit de substanțe bioactive [25]. Astfel rezultatul testului cu ABTS a fost de 407.5 ± 0.14 în cazul frunzelor *versus* 171.5 ± 1.01 (TEAC/mg extract) în cazul rădăcinilor. Rezultatele testului FRAP de asemenea au fost statistic diferite, înregistrând în cazul frunzelor valori de 156 ± 5.28 comparativ cu acțiunea rădăcinilor – 40 ± 0.3 (AAE/mg extract). Grație conținutului mai mare de polifenoli și flavonoizi în frunze, concentrația EC_{50} stabilită în cadrul testului DPPH a fost mai mică (0.4 mg/mL), comparativ cu cea exercitată de rădăcini (1.3 mg/mL). De menționat că TO și-a dovedit eficacitatea în calitate de remediu util în stresul oxidativ fără a prezenta toxicitate ($LD_{50} > 5000$ mg/kg bw). Datele referitor la supremația antioxidantă a frunzelor descrisă anterior coincid și cu rezultatele publicate de Vasmatkar *et al.* (2016), Padmapriya *et al.* (2017), Tshabalala *et al.* (2020) [65–67].

Acțiune antioxidantă posedă și semințele de TO [37]. Testul DPPH a evidențiat activitatea înaltă de antiradical al extractelor metanolice, IC_{50} variind în limitele 0.06–0.42 mg/mL în funcție de compoziția extractului. Autorii au stabilit că această acțiune este mai puțin influențată de prezența flavonoizilor, de bază fiind conjugății tricin-lignan și agliconele flavone (crizoeriol, tricin și apigenin), capabili de a modifica (metila sau substitui) sistemul catechol în inelul B al agliconului.

Acțiunea hipoglicemiantă și hipolipidemiantă. Datele din literatură prezintă rezultate controversate referitor la eficiența extractelor de TO în calitate de remedii hipoglicemiante.

În diabetul zaharat, hiperglicemia este responsabilă pentru dezvoltarea stresului oxidativ, prin auto-oxidarea glucozei și glicarea proteinelor, asociată cu creșterea peroxidării lipidelor și diminuarea activității mecanismelor antioxidante [68].

Cho *et al.* (2002) au determinat că, la administrarea extractelor hidrice din frunze de TO șobolanilor cu diabet indus cu *streptozotocină* are loc diminuarea concentrației DAM hepatice și a glucozei serice [69].

Administrarea a unui mix de ierburi, în care 9.7% au fost rădăcini de TO a îmbunătățit semnificativ indicii sistemului antioxidant în ficatul șoarecilor diabetici [68]. După datele lui Petlevski *et al.* (2001), administrarea extractului etanolic uscat, 20 mg/kg, șoarecilor NOD (*nonobese diabetic*) cărora li s-a indus diabetul cu *alloxan* a diminuat semnificativ nivelurile de fructozamină și glucoză [70]. Aceiași autori au demonstrat că la a 7-zi de tratament cu 20 mg/kg de extract a crescut semnificativ activitatea catalitică a GST și a diminuat ne semnificativ DAM, considerați drept indicatori ai stresului oxidative în diabetul precoce.

Suspensia de TO (din toată planta) în 2% de tragacant, administrată iepurilor *per os* în doza de 0.5 g/kg corp nu a modificat nivelul glucozei la animalele normo-glicemice [18]. Odată cu creșterea dozei administrate la 1-2 g/kg corp s-a semnalat un efect hipoglicemic pronunțat. Însă, după datele lui Akhtar MS *et al.* (1985) administrarea de TO în aceleași doze animalelor cu diabet provocat cu preparatul *alloxan* nu a modificat nivelul glucozei în sânge.

Hussain *et al.* (2004) au stabilit stimularea secreției insulinei de către celulele INS-1 sub influența extractelor etanolice de TO în doza de 40 μ g/mL în diabet. De menționat că există plante, precum *Artemisia roxburghiana*, *Salvia coccinia* sau *Monstera deliciosa* care au realizat aceeași acțiune în doză mai mică (1 μ g/mL), comparativ cu TO [71]. Acțiunea secretagogă pentru insulină și diminuarea concentrației serice a glucozei sub influența TO a fost susținută și de Schutz *et al.* [3].

Unul din componentele TO, acidul clorogenic s-a dovedit a fi efectiv în diabet grație diminuării absorbției de carbohidrați și inhibarea transportului intestinal al glucozei [72]. Totodată acest acid a inhibat efectiv și glucoso-6-fosfat translocaza (G6PT).

Enzima α -glucozidaza, din citolema epitelocitelor intestinului subțire catalizează scindarea dizaharidelor și obținerea glucozei. Compușii capabili de a bloca α -glucozidaza intestinală pot încetini digestia și absorbția carbohidraților, astfel indirect controlând glicemia postprandială. Conform datelor prezentate de Onal *et al.* (2005), extractele hidrice de TO au inhibat efectiv, *in vitro* această enzimă cu un IC₅₀ de 2.3 mg extract plantă/mL în drojdie (*Saccharomyces cerevisiae*), 3.5 mg extract plantă/mL în cazul ficatului de iepure și 1.83 mg extract plantă/mL acționând asupra epitelocitelor intestinului subțire de iepure [73].

În favoarea administrării TO în diabetul zaharat tip 2 vorbesc și datele lui Melzig și Funke (2007) care au depistat o inhibiție de 20-45% a α -amilazei după administrarea extractului din frunze [74]. Utilizarea aceluiași tip de extract a inhibat efectiv și α -glucozidaza din drojdia de

panificație, ficatul și intestinul de iepure cu un IC_{50} (mg plantă/mL) de 2.3, 3.5 și 1.83, comparativ cu controlul (*acarbose*) de 0.5, 0.75, și 0.25 mg/mL.

Conform datelor furnizate de Kim *et al.* (2007), TO și-a demonstrat eficacitatea în calitate de remediu antiinflamator la șoarecii C57BL/6, care urmau o dietă aterogenică [75]. Animalele au primit în decursul a 6 săptămâni extracte alcoolice și hidrice de 1.5%, 3% din întreaga plantă. Drept rezultat s-a constatat că conținutul plasmatic total de colesterol și trigliceride a diminuat considerabil în grupul animalelor care au primit ca supliment extractele de TO, mecanism explicat de cercetători prin excreția mai exprimată a lipidelor datorită efectului colagog al TO.

Într-un alt studiu în care s-au folosit frunze de TO, cercetătorii au stabilit și alte acțiuni ce au ca punct de reper inflamația, precum diminuarea activității SOD, creșterea activității CAT și nivelului de GSH nu numai în plasmă, dar și în ficat, cord, rinichi [76]. Ca urmare al acestui studiu s-a concluzionat că TO poate reduce riscul de dezvoltare a aterosclerozei prin activitățile cumulative antiinflamatoare, antioxidante și hipolipidemice.

De asemenea există dovezi *in vivo* referitor la eficiența TO într-un șir de stări, ce predispun la afectarea sistemului cardiovascular, precum hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia și obezitatea [69]. Drept exemplu, extractele din frunze de TO au exercitat acțiuni hipolipidemică în cazul șobolanilor aflați atât pe dietă cu conținut sporit de colesterol, cât și în cazul animalelor diabetice. Utilizarea extractelor din frunze și rădăcini a diminuat extinderea procesului aterogen, a redus indicii stresului oxidativ, nivelurile colesterolului total, trigliceridelor, LDL-col și a stimulat creșterea concomitentă a HDL [77].

În studiul efectuat de Kim *et al.* (2007) cu extractele hidrice (1.5%) și etanolic (3%) pe șoareci de linie C57BL/6, care urmau o dietă aterogenă, s-a raportat o descreștere semnificativă a trigliceridelor și colesterolului total în plasmă și ficat, după 6 săptămâni de administrare [75]. În contrast, a crescut concentrația totală de lipide, trigliceride și colesterol în masele fecale. De asemenea, autorii au subliniat micșorarea concentrației de sVCAM-1 un biomarker asociat în literatură cu hipertensiunea, inflamația și disfuncțiile endoteliale.

Inhibarea lipazei pancreatice, enzimă cheie în digestia lipidelor, în opinia lui Olshansky *et al.* (2005) reprezintă o acțiune suplimentară a TO, capabilă de a micșora absorbția lipidelor [78]. Activitatea extractelor de TO a fost comparată cu cea exercitată de *orlistat*, un medicament utilizat în tratamentul obezității, cunoscut pentru acțiunea sa inhibitorie asupra lipazei pancreatice. În concentrația de 250 $\mu\text{g/mL}$, TO a blocat lipaza pancreatică *in vitro* la 90.2% din inhibiția produsă de *orlistat*, la un IC_{50} de 78.2 $\mu\text{g/mL}$ *versus* 0.14 $\mu\text{g/mL}$ în cazul medicamentului. Eficacitatea TO a fost demonstrată și *in vivo*, pe șoareci cărora li s-a administrat

per os extract etanolic (95%) de TO în doza de 400 mg/kg, urmat de masă copioasă la dejun. Extractul în cauză a diminuat semnificativ nivelul trigliceridelor plasmatice post-prandial la 90 și 180 minute. În opinia lui Moreno *et al.* (2006) această activitate a TO se datorează flavonoizilor, precum luteolina care poate inhiba activitatea lipazei pancreatice [79].

Acțiunea anticoagulantă. Extractele etanolicе din rădăcini de TO au blocat agregarea plachetelor sangvine indusă cu ADP. Cea mai efectivă inhibare, de 85%, s-a observat la doza de 0.04 g rădăcină uscată/mL sânge, comparativ cu 91% inhibiție cauzată de polizaharide cu masă moleculară joasă și 80% inhibiție a agregării plachetare de către fracțiunile îmbogățite cu triterpene și steroizi. Totodată, agregarea indusă cu acid arahidonic sau colagen nu a fost influențată de TO [18]. Trebuie de menționat că, agregarea plachetară indusă cu ADP nu a fost influențată de infuziile hidrice din frunze de TO [80].

Conform datelor prezentate de Jedrejek *et al.* (2019), rădăcinile de TO, în special în cazul extractelor îmbogățite cu acizi hidroxicinamici (preferențial esterii acizilor cafeic, cumaric și ferulic) exercită acțiune puternică anticoagulantă [36]. Autorii au remarcat, că această acțiune se datorează abilității TO de a modula activitatea trombinei. Acțiunea anticoagulantă, după părerea autorilor depinde de componența extractelor, fiind mai pronunțată la predominarea cantitativă a polifenolilor, în special a acizilor clorogenic și cicoric. Autorii au subliniat absența lizei trombocitare în cazul tuturor extractelor testate de TO, în doza de 0.5-50 $\mu\text{g/mL}$, estimată prin măsurarea nivelului de LDH în mediu.

După Lis *et al.* (2018) TO manifestă activități antiagregante și antioxidante, dependente de partea plantei și tipul extractantului [81]. Astfel inhibiția peroxidării lipidelor în plachetele sangvine, indusă cu $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$, a fost mai efectivă la utilizarea extractelor etanolicе de 50% din frunze și petale, ambele la concentrația de 50 $\mu\text{g/mL}$. Totodată, activitate anticoagulantă în cazul plasmei umane a fost raportată la testarea extractului etanolic de 50% din petale, extractelor metanolicе de 85% din frunze și petale, demonstrată prin creșterea timpului trombinic. Autorii au atribuit aceste efecte derivaților acidului hidroxicinamic.

Proprietăți anticoagulante au fost recent atribuite și semințelor de TO [37]. Autorii au determinat că extractele de TO blochează efectiv adeziunea plachetelor activate cu trombină sau ADP la fibrinogen sau colagen. Aceste extracte sau dovedit a fi efective și în scop profilactic, blocând activarea plachetelor sangvine, confirmată prin diminuarea expresiei membranare a complexului GPIIb/IIIa (PAC-1 binding), în special în cazul fracțiilor îmbogățite cu luteolină.

Un mecanism al acțiunii antiagregante a TO este diminuarea eliminării de P-selectină, o glicoproteină componentă a granulelor α din granulomerul trombocitelor [82]. Conform datelor

prezentate de Lis *et al.* (2020) acest mecanism este mai accentuat în cazul extractelor îmbogățite cu luteolină și acizi hidroxicinamici [37]. Mai mult, autorii au demonstrat abilitatea acestor extracte de a diminua peroxidarea lipidelor *in vitro* în plachetele activate cu trombină, fapt datorat implicării flavonoizilor în metabolismul acidului arahidonic.

Acțiunile prebiotică, antimicrobiană și imunomodulatorie. Conform datelor prezentate de Schutz *et al.* (2006) rădăcinile de TO, grație conținutului înalt de inulină acționează în calitate de *demulcent* (un agent calmant în formă de peliculă ce se aplica pe membrana mucoasă) și prebiotic. Trojanova *et al.* (2004) au determinat că infuzia din rădăcini de TO a stimulat semnificativ *in vitro* creșterea și dezvoltarea a 14 tipuri de bifidobacterii [83]. Comparând conținutul de carbohidrați, până și după incubare autorii au depistat utilizarea intensă (48%) a oligofructanilor din TO, servind astfel în calitate de ”energizanti” ai bacteriilor, în special a șase culturi, dintre care mai efectiv în cazul *Bifido adolescentis*, *Bifido bifidum*, *Bifido catenulatum* și *Bifido longum*.

Zheng M. (1990) a raportat efectul antiviral al TO efectuând studii *in vitro* pe herpes virusul uman tip 1 (HSV-1). În opinia lui Sengul *et al.* (2009), aceste activități ale TO sunt datorate flavonoizilor [84].

Kenny *et al.* (2015) au evaluat proprietățile antimicrobiene ale extractelor crude și dializate din rădăcini de TO pe culturi bacteriene Gram-pozitive și Gram-negative [85]. Autorii au determinat, că extractul crud hidrofobic de TO pe metanol este cel mai efectiv agent de inhibiție a creșterii culturilor de *Staphylococcus aureus* rezistenți la meticilină și *Bacillus cereus*. Ulterior, autorii au fracționat acest extract, obținând fracții cu activități antimicrobiene mai pronunțate decât extractul primar. Prin metoda LC-SPE-NMR (*liquid chromatography solid phase extraction nuclear magnetic resonance*) autorii au identificat în această fracție acizii 9-hidroxiocetadecatrienoic și 9-hidroxiocetadecadienoic, compuși fenolici, cum ar fi vanilina, acizii coniferaldehide și p-metoxifenilgloxilic.

Diaz *et al.* (2018) au evaluat experimental importanța extractantului în vederea obținerii de noi remedii antimicrobiene din frunze de TO [86]. Autorii au stabilit că extractul pe hexan a inhibat creșterea *S. aureus* cu 89% în concentrația de 200 μg/mL și a fost mai efectiv în cazul bacteriilor Gram-pozitive, comparativ cu cele Gram-negative, cel mai puțin efectiv fiind în cazul *K. pneumoniae*. Extractul pe etil acetat a inhibat creșterea *E. coli* cu 97% la 1600 μg/mL, fiind absolut neefectiv în cazul *S. aureus*. Extractul pe metanol (0.2 mg/mL) a fost efectiv față de *Micrococcus luteus* și *Vibrio cholera*, fiind neefectiv față de *S. aureus*, *Enterobacter faecalis*, *Enterococcus bacteria*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumonia* și *E. coli*.

Aceste rezultate coincid cu datele prezentate anterior de Ionescu *et al.* (2013), care au raportat ineficiența extractelor pe etanol din frunze de TO față de *S. aureus*, *E. coli* și *Salmonella abony*.

Acțiunea imunomodulatorie a fost atribuită polizaharidelor identificate în TO. În experimentele realizate de Luo Z.H. (1993), planta a reactivat imunitatea atât celulară, cât și umorală supresată la șoarecii SCALD (*short-chain aldehyde reductase*). Yoon *et al.* (2008) au demonstrat că extractele hidrice din rădăcini de TO, cu apă fierbinte (100°C) sau rece (4°C) au stimulat activitatea macrofagelor, fără a afecta viabilitatea acestora.

Extractele de TO au crescut semnificativ producerea de citochine, IL-6 și IL-12. Această acțiune a depins de concentrația și temperatura soluțiilor: 18 mg/mL în cazul extractelor cu soluții fierbinți și 8 mg/mL la cele reci [87]. În opinia autorilor, TO poate acționa în calitate de remediu modulator asupra diferitor celule imunocompetente. Șoarecii imunizați cu Ova/Fia (*Freund's incomplete adjuvant*) și tratați cu TO, au produs mai multe imunoglobuline de tip G1, G2a și G2b comparativ cu grupa de control. De menționat că, producerea de IgE nu a fost influențată de TO. Limfocitele lienale (splenocitele) tratate cu TO de asemenea au reacționat prin creșterea producerii de IFN- γ , IL-4, IL-6 și IL-10.

Conform datelor prezentate de Schutz *et al.* (2006) TO reprezintă un remediu cu proprietăți antialergice, grație sesquiterpenei desacetilmatricarin, care diminuează activitatea hexoaminidazei la activarea mastocitelor [3].

Acțiunile hepatoprotectoare și colagogă. Park *et al.* (2007) au determinat că extractele hidrice de TO au diminuat efectiv nivelul enzimelor serice (ALT, AST, ALP) și al TNF- α la șobolanii Sprague-Dawley, cu hepatopatie toxică indusă prin administrarea de CCl₄. Autorii au identificat că în grupul tratat timp de 7 zile cu extract hidric de TO (304.92 – 500 mg/kg corp) prin gavaj, se atestă o creștere a conținutului de SOD, GSH, GR, CAT, precum și o reducere a nivelului de ARNm citocrom P450 2E1, acțiuni corelate cu doza de TO administrat și conținutul de polizaharide [88]. Extractul de TO a atenuat efectiv procesul hepatotoxic indus de CCl₄ prin intermediul mediatorilor NF- κ B, precum iNOS, COX-2, TNF- α și IL-1. Aceste rezultate au fost susținute și prin examenul histopatologic, fiind descrise descreșterea infiltratului inflamator, a apoptozei și necrozei hepatocitelor. Suplimentar, administrarea profilactică a polizaharidelor din TO s-a remarcat prin activitate redusă a AST, ALT și activitate înaltă de eliminare a radicalilor liberi, comparativ cu grupul martor.

Procesul de fibroză, caracterizat prin afectarea arhitecturii normale a organelor din cauza acumulării componentelor matricei extracelulare, este frecvent descris drept finalul multor

procese cronice, inclusiv ale ficatului. Domitrovi *et al.* (2010) au stabilit că TO denotă acțiune antifibrotică, după ce au administrat intraperitoneal extract hidro-etanolic din rădăcini de TO (600 mg/kg corp/zi), timp de 10 zile, șobolanilor cu fibroză hepatică indusă cu CCl₄. Autorii au stabilit că extractele din TO sunt capabile de a inactiva celulele stelate ale ficatului, de a diminua conținutul fibros și stresul oxidativ, precum și de a modula expresia locală a markerilor GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) și α -SMA. Concomitent, a fost înregistrată și o creștere a metalotioneinei I/II sub influența TO [89].

Acțiunea antifibrotică a TO a fost confirmată și de Shi *et al.* (2009) care au studiat acțiunea acidului clorogenic, administrat intra-gastric (30-60 mg/kg) șobolanilor cu fibroză hepatică indusă cu CCl₄. Autorii au raportat o scădere marcată a conținutului de colagen tip I și III, a expresiei markerilor BCL-2, VEGF și TGF- β 1 [90].

Conform rezultatelor prezentate de You *et al.* (2010) extractele hidrice din rădăcini de TO posedă acțiune antioxidantă și pot diminua peroxidarea lipidelor, astfel protejând celulele HepG2/2E1 [91]. Efectul hepatoprotector a fost stabilit și prin administrarea de extract hidric șoarecilor (1.0 g/kg corp/zi) cărora le-a fost indus procesul hepatotoxic cu etanol. La aceste animale s-a determinat o scădere semnificativă a conținutului plasmatic de AST, ALT, LDH și ALP. Efectul benefic al TO asupra stării ficatului a fost demonstrat și la utilizarea extractelor etanolice, precum și a extractelor din rădăcini de TO îmbogățite cu lactone sesquiterpene șoarecilor, cărora li s-a indus procesul hepatotoxic cu CCl₄. Autorii au raportat că, de rând cu micșorarea activității enzimelor serice (ALT, AST, ALP) și a nivelului bilirubinei totale, s-a redus semnificativ masa ficatului și indicii stresului oxidativ, demonstrat prin conținut sporit al GR și diminuarea peroxidării lipidice. În opinia lui Mahesh *et al.* (2010) aceste efecte se datorează acțiunii lactonelor sesquiterpene, izolate și identificate prin HPLC în extractele pe etil acetat din rădăcini de TO [92].

Dat fiind faptul că părțile vegetale sunt amare la gust, acestea au fost administrate în calitate de stimulatoare de apetit și laxative [20]. În opinia lui Bohm (1959) componentele bioactive, care oferă acest gust, stimulează formarea și secreția bilei, fapt susținut mai târziu și de Fang *et al.* (1991) [93]. Aceste proprietăți au stat la baza recomandării utilizării TO în tratamentul diferitor tipuri de hiperbilirubinemii, enzimopatii precum sindroamele Crigler-Najjar și Gilbert, colestaze generate de anomalii ale ficatului, litiază biliară și colecistite.

Extractele din frunze, al căror conținut de polifenoli (9.9 g%) și flavonoizi (0.086 g%) a fost evaluat aproximativ de 3 ori mai mare decât în rădăcini, și-au dovedit eficacitatea în calitate de donori de H⁺ (I₅₀=160 μ g), agenți de reducere (740 ASE mg⁻¹) și de eliminare a peroxidului de hidrogen (I₅₀=155 μ g) [58,59].

Conform rezultatelor raportate de Maliakal *et al.* (2001) TO efectiv modulează activitatea enzimelor fazelor I și II ale dezintoxicării din microzomii hepatocitelor de șobolan [94]. Autorii au constatat că, la șobolanii care au folosit timp de 4 săptămâni soluție hidrică de 2% de TO, activitatea a CYP1A2 și CYP2E, două izoforme ale citocromului P450 din microzomii hepatici, a fost cu 15% mai redusă față de control.

Cho *et al.* (2010) au investigat acțiunea TO asupra sistemului antioxidant al ficatului la șobolani, ulterior studiat și la iepuri, care au urmat o dietă aterogenă, suplinită în grupele de studiu cu extracte din TO pe apă, eter și etil acetat [77]. Autorii au constatat o scădere a activității xantin oxidazei la șobolanii care au utilizat extract hidric din frunze de TO. Extractele hidrice au fost cele mai efective și în stimularea activității glutatation peroxidazei (GPx) și glutatation-S-transferazei (GST), efecte susținute și prin deprecierea cantitativă a peroxidării lipidelor. Totodată activitatea SOD a fost semnificativ redusă, iar a CAT semnificativ ridicată în toate grupele de animale care au utilizat TO.

Prin diminuarea stresului oxidativ, Gargouri *et al.* (2017) au demonstrat efectul hepatoprotector al TO la șobolanii cu ficatul afectat de plumb [95].

TO se regăsește ca component în multiple combinații cu alte ierburi, care s-au remarcat efective în caz de constipație, diaree, spasm intestinal, colită cronică, ulcer gastric, metaplazia și hiperplazia epiteliului gastric. Studiul realizat de Shi *et al.* (2009) a pus în evidență proprietatea modulatorie kinetogenică al acidului clorogenic, unul din componentele promițătoare ale TO [90]. Administrarea intra-gastrică de acest acid a redus expresia de α -SMA, GRP78 și GRP94, a stimulat contracția și a redus dimensiunile miocitelor colonului.

Acțiunea antitumorală. Acțiunea citotoxică a TO a fost atribuită inițial de Takasaki *et al.* (1999) triterpenoizilor și sesquiterpenelor [96]. Din triterpenoizi, taraxasterol-ul și taraxerol-ul au prezentat acțiuni celulare inhibitorii promițătoare, iar în opinia lui Ovesna *et al.* (2004) taraxasterol-ul poate fi considerat și agent chemopreventiv [97].

Hata *et al.* (2006) au izolat din TO un triterpen de tip lupan, asemănător lupeolului capabil de a inhiba creșterea celulelor și de a induce melanogeneza în linia celulară de melanom la șoareci (B16 2F2) [98].

Studiile în domeniu indică, că extractele hidrice din rădăcini de TO pot induce apoptoza în celulele tumorale în caz de leucemie și limfom [99,100]. Extractele cu concentrații mici au fost capabile să inducă specific apoptoza în linia de T-celule leucemice (Jurcat), fără a afecta celulele sănătoase. În opinia autorilor, mecanismul posibil prin care extractele din rădăcini acționează este activarea timpurie, profilactică a caspazei-8, urmată subsecvent de activarea caspazei-3

[101]. S-a observat că, celulele Jurkat care expresează proteina FADD (*Fas-associated death domain*) nu au fost induse în apoptoză de către TO, indicând că această plantă implică în acțiunea sa calea extrinsecă a morții celulare [102]. Implicarea acestui mecanism de acțiune, a apoptozei mediate celular este susținută și de faptul că, celulele în care proteinele FADD nu au format un complex cu DISC (*death-inducing signaling complex*) au fost rezistente la acțiunea rădăcinilor de TO [99].

Datele raportate de Jeon *et al.* (2008) relevă că, extractele etanolice din frunze și flori de TO posedă activitate antiangiogenică, care poate fi privită pozitiv nu numai din punct de vedere al chimioterapiei, dar și al chimioprevenției [57]. Această activitate a fost atribuită flavonoizilor.

Acidul taraxinic, un aglicon al acidului 1-O- β -D-glucopiranozid taraxinic, și-a dovedit eficacitatea antiproliferativă față de celulele HL-60 [103]. Conform datelor furnizate de Koo *et al.* (2004) decoctul hidric de TO a redus viabilitatea liniei celulare de hepatom HepG2 cu 26% [104]. Autorii au constatat că TO acționează într-o manieră dependentă de doză și timp: secreția maximă de citokine, IL-1 (66 ± 1.7 pg/mL) și TNF- α (186 ± 2.0 pg/mL), urmată de apoptoză a fost observată la adăugarea a 0.2 mg/mL de extract după 48 ore de incubare.

Proprietatea TO de a induce secreția de TNF- α de către macrofagele peritoneale stimulate prealabil cu rIFN- γ a fost consemnată încă de Kim *et al.* în 1999, care au constatat că odată cu TNF- α a crescut și producerea de NO [105]. Ulterior autorii au stabilit că TO are efect diferit, în dependență și de tipul celulelor țintă. Astfel, în cazul astrocitelor, cu și fără stimulare prealabilă cu LPS, TO în doza de 100 și 1000 μ g/mL a inhibat semnificativ producerea de IL-1 și TNF- α [106].

În opinia lui Goldberg *et al.* (2007) extractele hidrice de TO, aplicate în carcinomul pulmonar Lewis nu modifică procesul de metastazare [107]. Însă aceste extracte au potențat acțiunea *ciclofosfamidei*, modificând indicele de inhibare a metastazelor de la 4% la 77%. În opinia autorilor această activitate se datorează polizaharidelor extrase din TO (cu predilecție lentinan) [108].

Sigstedt *et al.* (2008) au comparat acțiunea antitumorală a extractelor hidrice din flori, frunze și rădăcini de TO asupra liniei tumorale de cancer mamar MCF-7/AZ [109]. Autorii au stabilit că doar extractele crude din frunze pot diminua creșterea celulelor tumorale cu 40% după 96 ore de incubare, acționând prin intermediul kinazelor reglate extracelular (ERK). Totuși extractele din rădăcini s-au remarcat prin blocarea proprietăților invazive ale celulelor MCF-7/AZ, în timp ce extractele din frunze au blocat mai efectiv proprietățile invazive ale celulelor de cancer prostatic LNCaP. Aceste efecte ale TO, în opinia autorilor, sunt datorate diminuării

nivelului de fosforilare a FAC și SRB, precum și datorită inhibării activității metaloproteinazelor matriceale MMP-2 și MMP-9.

Extractul etanolic de TO, administrat șoarecilor timp de 10 zile s-a manifestat prin inhibiția marcată a celulelor tumorale ddY-Ehrlich inoculate intraperitoneal cu o săptămână mai devreme [110].

Acțiune antitumorală a fost determinată și în cazul extractului de TO pe apă fierbinte, care au blocat efectiv tumorile Ehrlich de la șoareci ddY și liniile tumorale singenice derivate de la șoarecii C3H/He-MM46. Autorii au sugerat că acest efect este similar polizaharidei antitumorale, lentinan-ului, și este probabil datorat carbohidraților prezenți în extract.

Recent, Yoon *et al.* (2016) au selectat TO din 500 de plante în calitate de cel mai efectiv remediu adjuvant în terapia TRAIL (*TNF-related apoptosis inducing ligand*) [111]. Tratamentul combinat, TRAIL și TO, a culturii celulare Huh7, a indus apoptoza celulelor tumorale, inițial rezistente la TRAIL, prin inhibarea interacțiunii MKK7-TIPRL și activarea fosforilării MKK7-JNK. Componentul major al extractelor s-a dovedit a fi acidul cicoric.

Un alt mecanism al acțiunii citotoxice a fost descris de Gerbino *et al.* (2018) la utilizarea celulelor HEK293 (*human embryonic kidney*) tratate cu extract etanolic din rădăcini de TO [112]. Autorii au semnalat eliminarea explozivă a Ca^{2+} din reticulul endoplasmatic și influxul acestui ion în plasmalemă.

În pofida celor relatate până acum, Jedrejek *et al.* (2019) au depistat cca 100 de componenți bioactivi în rădăcinile de TO, însă nici unuia nu i-a fost atribuit un rol specific, antitumoral, ceea ce probabil se datorează acțiunii sinergice a mai multor compuși [36].

Alte activități. Acțiunea diuretică a extractelor hidrice din frunze de TO s-a dovedit a fi mai efectivă comparativ cu extractele din rădăcini. Efectele diuretic și saluretic au fost înregistrate la utilizarea TO în doza de 8 g de materie vegetală uscată/kg corp, efecte comparabile cu utilizarea *furosemidului* în doză de 80mg/kg corp. Excreția înaltă a potasiului se datorează cel mai probabil conținutului înalt de potasiu în această plantă [18]. Utilizarea extractelor metanolice din rădăcini în doza de 50 mL/kg a avut un efect diuretic neînsemnat.

Acțiunea urolitică a infuziei de TO a fost studiată pe șobolani Wistar în sinergism cu alte 6 plante. Acest efect benefic a fost atribuit saponinelor din TO. Clare *et al.* (2009) au constatat că administrarea *per os* a extractelor hidro-etanolice din frunze de TO voluntarilor a stimulat efectiv frecvența micțiunilor și volumul urinei [113].

Woolfe și Macdonald (1944) au demonstrat că după 3 ore de la administrarea intra-peritoneală a extractului etanolic uscat de TO în doză de 100 mg/kg se atestă o creștere a

timpului de reacție cu 38%, ceea ce indică posibilitatea de utilizare a acestei plante în remedii analgezice și adaptogene. Aceeași doză de TO a redus reacția de răspuns la fenilquinona a șoarecilor cu 24%, iar creșterea dozei la 1g/kg corp a rezultat cu creșterea efectului analgezic la 44% [3].

Studiul prezentat de Zhu *et al.* (2007) atestă că TO poate regla expresia receptorilor pentru estrogeni (ER- α , ER- β), progesteron și FSH (*follicle-stimulating hormone receptor*) în celulele țesutului adipos și a organelor reproductive după utilizarea *per os* al acestei plante timp de 6 săptămâni [114]. Datele recente, prezentate de Oh *et al.* (2015) au pus în evidență capacitatea extractelor foliare de TO pe etanol de a stimula proliferarea celulelor, prin inducerea expresiei a unui șir de gene, atribuite mecanismelor estrogenice de acțiune, precum pS2 și PR, inhibate prealabil cu tamoxifen în doza de 1 μ mol/L. Abilitatea TO de a stimula activitatea estrogenilor a fost susținută și grație efectului uterotrofic, determinat la șobolanii imaturi, remarcat însă doar la concentrații mici ale TO [115].

Conform datelor Aremu *et al.* (2019) TO este un remediu eficace în boala hipertensivă [25]. TAC (*total antioxidant capacities*/capacitatea antioxidantă totală) și DAM reprezintă markeri ai statusului oxidativ, alterat frecvent din cauza deficienței NO. În axul patogenetic deficiența sau absența NO cauzează creșterea producerii de SRO, ceea ce duce la creșterea tensiunii. Autorii au stabilit că extractele hidro-alcoolice 70% (v/v) din frunze și rădăcini de TO (500 mg/kg/zi) administrate timp de 21 zile șobolanilor cărora le-a fost provocată boala hipertensivă cu esterul metilic al N ω -nitro-L-arginina, au crescut semnificativ nivelurile de TAC și DAM. Mai mult, a fost stabilit că acțiunea TO asupra unui organ depinde de partea componentă a plantei. Drept exemplu, TAC evaluat în rinichi și creier a fost similar pentru frunze și rădăcini, iar în ficat a înregistrat valori mai mari la acțiunea extractelor din rădăcini. Totuși, un neajuns al acestui studiu ar fi absența datelor referitor la conținutul antioxidantilor enzimatici, precum SOD, CAT, GR și mai nou a proteinelor HemOxygenaze-1 (HO-1) și factorul eritroid -2 (Nrf2 / factorul de transcripție Nrf2).

Echipele lui Rodrigo (2011) și Montezano (2012) au constatat că, diminuarea tensiunii arteriale este rezultatul acțiunii antioxidante sinergice a unui șir de compuși, precum fenoli, saponine și flavonoizi, iar TO din cele menționate anterior este unul din liderii florei după conținutul acestora [116,117].

Polifenolii acționează asupra sistemului cardiovascular prin reglarea activității NOS (nitric oxid sintaza), astfel asigurând disponibilitatea NO în endoteliu [118]. Această activitate implică abilitatea polifenolilor de a interacționa cu căile kinazice de semnalizare (*kinase signalling pathways*) și Ca²⁺ intracelular în cadrul fosforilării eNOS (nitric oxid sintaza endotelială),

component indispensabil în mecanismul de producere a NO. Mai mult, conform datelor lui Seo *et al.* (2005), polifenolii inhibă endotelina-1, care posedă funcție vasoconstrictoare, și oxidaza NADPH endotelială, care este un producător al SRO, blochează angiogeneza și diverse metaloproteinaze matriceale implicate în bolile cardiovasculare [46].

Flavonoizii, prezenți în TO, previn afecțiunile vasculare prin inhibarea NADPH oxidazei. Aceasta se datorează implicării reglatorii în funcția kinazelor MAPK prin receptorii RAGE (*receptors for advanced glycation end-products*) și blocarea unui șir de factori de transcripție, precum NF-kB [119].

Efectul contraceptiv în cazul bărbaților, al plantelor crude și extractelor hidrice realizate atât din toată planta (1.06 – 2.13 g kg⁻¹ corp), cât și din frunze (2.30 – 4.60 g kg⁻¹ corp), administrate timp de 60 zile, a fost recent prezentat de Tahtaumoni *et al.* (2016), care au descris un șir de schimbări la șobolani, precum diminuarea în greutate a testiculelor și veziculelor seminale, micșorarea testosteronului seric, hipoplazia epiteliului seminifer, blocarea spermatogenezei la nivelul spermatidelor și diminuarea numărului de celule Leydig [120,121].

Rezultatele descrise de Li *et al.* (2014) pledează în favoarea unei alte acțiuni promițătoare a TO, antidepresantă. Autorii au semnalat la șobolani tratați cu extract hidric din rădăcini și frunze de TO timp de 14 zile au redus nivelului seric de CRF maximal (3.9 ng/mL) la doza TO de 200 mg/kg și a corticosteronului, într-o manieră dependentă de concentrația TO (50 mg/kg – 29.9 ng/mL; 100 mg/kg – 22.5 ng/mL și respectiv 200 mg/kg – 19.8 ng/mL) [122].

Cele menționate anterior, ne permit să concluzionăm că, TO reprezintă o sursă valoroasă de substanțe biologice active precum terpene, fenoli (acizi fenolici, flavonoizi, cumarine), vitamine și microelemente. Spectrul acestor substanțe și cantitatea lor nu sunt cunoscute cu certitudine, deoarece până în prezent s-au utilizat diferite părți ale plantei, din diverse perioade și zone de colectare, precum și variate metode de extracție. Astfel în pofida unui număr impunător de publicații persistă o lacună semnificativă în acest domeniu.

2. MATERIALE ȘI METODE DE STUDIU A CONȚINUTULUI EXTRACTELOR DIN *TARAXACUM OFFICINALE* ȘI MECANISMELE LOR DE ACȚIUNE

2.1 Metodologia generală a cercetării

Pentru realizarea eficientă a scopului și obiectivelor, a fost elaborat planul metodologic, cu următorul conținut:

- argumentarea problemei;
- selectarea materialului;
- elaborarea și aprobarea protocolului studiului;
- realizarea experimentelor și colectarea datelor;
- analiza și sinteza rezultatelor obținute;
- elaborarea recomandărilor și aplicarea lor în practică
- formularea concluziilor.

Lucrarea a fost realizată în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică, Laboratorului de biochimie și Centrului științific al medicamentului al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică al Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (avizul favorabil nr.3, din 21.11.2019) și a fost organizat în etapele specificate în figura 2.

2.2 Pregătirea materialului și metodele biochimice de investigație

Caracteristica materialului de studiu. În calitate de materie primă au servit plantele de *Taraxacum officinale* F. H. Wigg recoltate din mediul natural (flora spontană, 47° 4' 8" Nord, 28° 40' 47" Est). Drept criterii pentru recoltare au servit: plante fără semne vizibile de boală sau traumatism mecanic, până la înflorire, colectate în prima parte a zilei. De la fiecare plantă au fost colectate frunzele și rădăcinile.

După spălare abundentă în apă curgătoare materialul vegetal, frunzele și rădăcinile separat, a fost uscate la temperatura camerei, în condiții de laborator timp de 2 săptămâni. Materia primă uscată a fost mărunțită cu ajutorul râșniței de cafea (Scarlett Coffee grinder SC-4145). Pulberea obținută a fost stocată în eprubete din polistiren transparente, cu dop ermetic, la întuneric, la temperatura camerei.

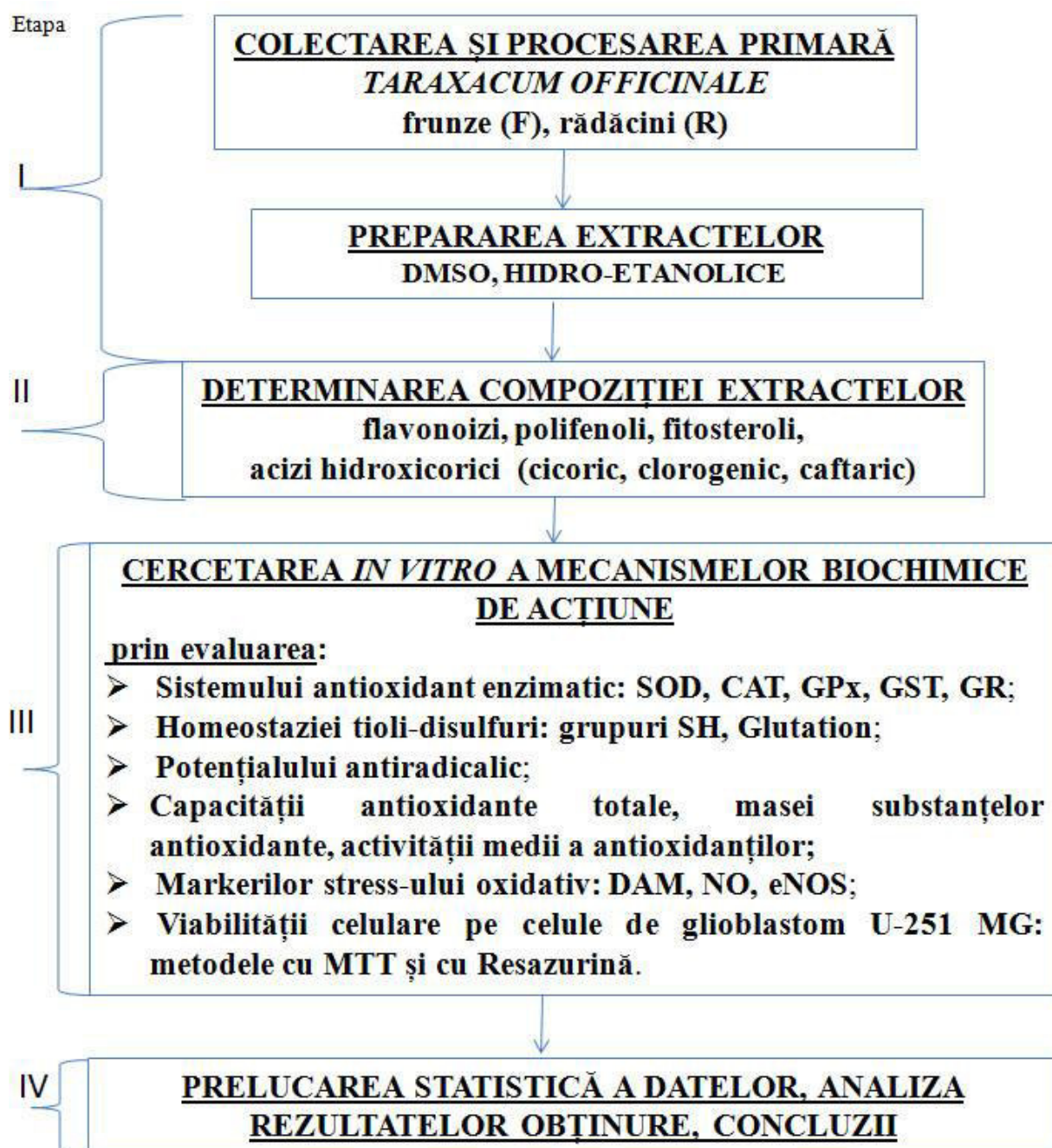


Figura 2. Design-ul cercetării.

Prepararea extractelor din TO. Din materia primă, frunze și rădăcini au fost preparate separat un șir de extracte. Pentru prepararea solvenților au fost utilizați: apa deionizată (Adrona Crystal), DMSO (*Dimethyl sulfoxide*, Sigma, DE), alcoolul etilic – 96% (Luxfarmol, MD), din care s-a obținut alcool etilic de concentrații de (20%, 50% și 80%).

Prepararea extractelor hidro-etanolice. Pentru prepararea extractelor hidro-etanolice a fost utilizat etanolul de concentrație 20%, 50% și 80%. Raportul biomasă (g)/extractant (mL) utilizat a fost de 1 g/10 mL. Extragerea a fost efectuată la temperatura camerei în baloane de

sticlă cu volum de 100 mL, timp de 24 ore. Extractele au fost filtrate cu ajutorul pâlniei Buchner însoțit de 5 filtre Whatman nr. 5 (WHA1005090, Merck, De). Din fiecare recipient au fost preluate câte 1,5 mL extract și centrifugat (FP-510 Centrifuge Labsystems Oy, FI) în eprubete Eppendorf la 5000 rotații/min timp de 5 minute. Procedeu de centrifugare a fost realizat cu scopul de a verifica calitatea filtrării. În toate cazurile nu a fost observat procesul de stratificare (sedimentare), ceea ce a permis utilizarea ulterioară a extractelor.

Cu scopul de a determina conținutul de masă uscată într-un mililitru, s-a realizat încă un procedeu de filtrare. Filtrele (Whatman nr.1, WHA10010155, Merck, De) curate, uscate au fost prealabil cântărite utilizând cântarul analitic (RADWAG PS210/C/2, PL). Din fiecare tip de extract, frunze și rădăcini s-au aplicat 200 μ L pe hârtia de filtru. Filtrele în cauză au fost plasate în termostat (TS-80M-2, RU) la temperatura 37⁰C pentru 24 ore, după care s-a repetat procedeu de cântărire. Masa materiei prime raportate per L a fost apreciată ca diferență dintre greutatea filtrelor de după și până la filtrare.

Prepararea extractelor cu utilizarea DMSO. Raportul biomasă (g)/extractant (mL) utilizat și în acest caz a fost de 1 g/10 mL. Concentrația finală a DMSO (<0.1%) în extracte a fost aleasă în conformitate cu datele literaturii [123,124]. Această concentrație nu afectează integritatea celulei, nu influențează proliferarea celulară și nu posedă efect citotoxic.

2.3 Studiul experimental al compoziției și efectelor extractelor din *Taraxacum officinale*

Determinarea conținutului total de flavonoizi s-a efectuat în cadrul Laboratorului de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu”, având la bază metoda elaborată de Ordonez *et al.* (2006) cu unele modificări publicate în certificatul de inovator Nr.5853, „*Metoda de dozare a conținutului total de flavonoizi*” [125].

Conținutul total de polifenoli (CTP) de asemenea a fost determinat în cadrul Laboratorului de biochimie a USMF „Nicolae Testemițanu” conform metodei prezentate în certificatul de inovator Nr.5852, „*Metoda de dozare a conținutului total de compuși fenolici*” [126].

Evaluarea conținutului de fitosteroli a fost efectuată conform metodei elaborate în cadrul Laboratorului de biochimie [127]. Esența procedeuului propus constă în dozarea β - sitosterolului și a derivaților lui în probele de cercetat luate în studiu, care la incubarea cu tampon fosfat de sodiu 0,05 M (pH 6,7) ce conține enzimele colesterol esteraza și colesterol oxidaza determină formarea peroxidul de hidrogen. Ultimul, în prezența peroxidazei din hrean reacționează cu p-clorofenolul și 4-aminoantipirină cu formarea unui produs colorat, cantitatea căruia este proporțională cu conținutul de fitosteroli.

Dozarea acizilor hidroxicorici s-a efectuat prin metoda HPLC-UV (Ana Casian, conf. cercet., dr. șt. farm., Igor Casian, conf. cercet., dr. șt. farm., Centrul științific al medicamentului, USMF „Nicolae Testemițanu”). Această metodă a fost descrisă în Farmacopeia Europeană (Ph. Eur.) pentru “Echinaceae purpureae herba” (Ph. Eur. 01/2008:1823) și „Echinaceae purpureae radix” (01/2008:1824) și adaptată de cercetătorii Centrului științific al medicamentului, pentru analiza probelor de TO [128].

Cercetarea in vitro a mecanismelor biochimice de acțiune a extractelor din Taraxacum officinale. Metodele de evaluare a activității TO au fost axate, în dependență de eseu, fie pe determinarea individuală a unui compus (SOD, CAT etc.), fie pe cuantificarea unui grup de compuși sau activități (SH total, capacitate antioxidantă totală, etc.).

Sângele utilizat în cercetare a fost colectat 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 ale Asociației Medicale Mondiale de la Helsinki pentru cercetarea medicală, care implică subiecți umani (proces verbal nr.1, la nr.81 din 18.09.2020). Sângele a fost recoltat dimineața *a jeun*, prin puncția venei cubitale, în cantitate de 8 mL, introdus într-un flacon ce conținea 92 mL mediu nutritiv Eagle modificat după Dulbecco (DMEM), heparină (2,5 un/mL), gentamicină (100 μg/mL) și L-glutamină (0,6 mg/mL). Testarea a fost efectuată pe plasma sau lizatul eritrocitar al sângelui donatorilor, în dependență de markerul biochimic studiat.

Toate procedeele utilizate în studiu au fost executate după tehnici preluate din literatura de specialitate, cu anumite modificări pentru aplicarea la spectrofotometrul Power Wave HT (BioTek Instruments, USA) și la spectrofluorimetrul cu microplăci Synergy H1 Hybrid Reader (BioTek Instruments, USA).

Pentru determinarea acțiunii extractelor din TO asupra sistemului antioxidant enzimatic am evaluat activitatea a 5 fermenți, frecvent mediatizați în literatura de specialitate: SOD, CAT, GPx, GST și GR.

În scopul determinării influenței TO asupra stresului oxidativ am aplicat extractele în cauză apreciind activitatea eNOS și conținutul de NO₂⁻, NO₃⁻, precum și nivelul DAM.

Efectul extractelor din TO asupra homeostaziei tiol-disulfidice a fost apreciat prin determinarea conținutului de tioli (liberi, totali) și formelor de glutatation (GSH, GSSG și total).

Tipul de acțiune, pro - sau antioxidant realizat de TO la nivelul seric a fost studiat prin determinarea capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și activității medii a antioxidanților.

Determinarea potențialului antiradicalic al TO, a fost efectuată prin utilizarea radicalului cation ABTS^{•+}.

Influența extractelor din TO asupra viabilității celulare (celule gliale U-251 MG) și evaluarea potențialului antitumoral al acestei plante a fost evaluată prin metodele MTT și alamarBlue (Resazurină).

Toate eseurile au fost realizate în triplicat, cu grupurile de control și substanțele de referință corespunzătoare metodelor.

2.4 Analiza statistică a rezultatelor

Rezultatele studiului au fost stocate și grupate în baza de date MS Access 2007 (Microsoft Office 2007). Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul softurilor GraphPad 8.0 (GraphPad Prism Software, v.8, San Diego, CA) și WINSTAT (R. Fitch Software, DE). Au fost calculate: mediile și deviațiile standard ($X \pm DS$), intervalul de încredere (95% IÎ), indicele IC₅₀ (concentrația molară a unei substanțe necesară să blocheze un răspuns cu 50% din intervalul de activitate între minim și maxim față de control). Corelațiile au fost efectuate după Spearman (r_s), diferența statistică dintre grupuri fiind evaluată prin Mann-Whitney U test. Gradul de corelație a fost apreciat conform recomandărilor lui Evans J. (1996): 0-0,19 – corelație foarte slabă; 0.20-0.39 – corelație slabă; 0.40-0.59 – corelație rezonabilă; 0.60-0.79 – corelație puternică; 0.80-1.0 – corelație foarte puternică [129]. Rezultatele au fost expuse sub formă de tabele, grafice și textual. Pentru toate procedeele, valoarea de prag pentru rezultatele semnificative statistic a fost stabilită la un $p \leq 0.05$. Gestionarea referințelor bibliografice a fost efectuată automat, utilizând softul integrat în Word 2007 și Chrome, Zotero 6.0.18 (www.zotero.org).

3. COMPONENTA CHIMICĂ A EXTRACTELOR DIN *TARAXACUM OFFICINALE*

În cadrul acestui studiu am considerat oportună estimarea cantitativă, simultană a compușilor extrași din TO prin utilizarea diferitor tipuri de extractanți. Au fost selectați compușii a căror acțiune deși este pe larg descrisă în literatura de specialitate, cu implicări biochimice multiple, însă a căror relație „doză-efect”, singulară sau în combinație nu a fost până acum descrisă.

Flavonoizii prezenți în TO, flavonii și flavonolii, reprezintă polifenoli care prin participare activă în procesele redox protejează plantele de acțiunile nefavorabile ale mediului [17]. În cazul organismului uman, acești compuși au prezentat acțiuni promițătoare antiinflamatorii, antitumorale, antihemoragice etc.

Polifenolii din punct de vedere chimic sunt compuși din structuri ciclice de carbon și hidrogen, care conțin una sau mai multe grupări hidroxil (–OH), sintetizați de către plante în calitate de metaboliți secundari. Acești compuși manifestă acțiuni antioxidante promițătoare, având punct de aplicare în toate patologiile cauzate de stresul oxidativ [2]. În cazul acestui studiu am determinat atât conținutul total de polifenoli, cât și sumarul a celor mai frecvent relatați în literatură acizi fenolici, derivați ai acidului hidroxicinnamic (cicoric, caftaric, clorogenic) și totalul acizilor hidroxicorici.

Fitosterolii reprezintă echivalenții vegetali ai colesterolului, care în cazul celulelor vegetale sunt implicați în reglarea stabilității și permeabilității plasmalemale. În literatura de specialitate acești compuși sunt indicați în calitate de remedii ce diminuează nivelul de colesterol seric, astfel fiind utili în profilaxia și tratamentul aterosclerozei și bolilor cardiovasculare [130]. De asemenea există rezultate clinice și experimentale despre eficiența acestora în terapia tumorilor de sân, colon și prostată, dovedind abilitatea acestor compuși de a inhiba creșterea și metastazarea celulelor tumorale, inducerea apoptozei [131].

3.1 Material și metode

Componenta chimică a fost stabilită în extractele stoc din frunze (FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L și FEtOH80 – 40,000 μg/L) și rădăcini de TO (RDMSO – 145,000 μg/L, REtOH20 – 95,000 μg/L, REtOH50 – 60,000 μg/L și REtOH80 – 50,000 μg/L), ulterior recalculată conform diluțiilor utilizate.

Determinarea conținutului total de flavonoizi s-a efectuat în baza metodei elaborate de Ordonez *et al.* (2006), modificată după Fulga *et al.* (2021) [125]. În calitate de substanță de referință a fost utilizat Dihydroquercetina (DHQE). Principiul metodei constă în faptul că $AlCl_3$

reacționează cu DHQE, cu formarea unui complex chimic stabil colorat în acid [132]. Noutatea metodei constă în faptul că în calitate de substanță de referință a fost utilizat DHQE, care are doi atomi suplimentari de hidrogen per moleculă, ceea ce îl face un antioxidant mai puternic decât Quercetina. Rezultatele au fost citite la 420 nm folosind spectrofotometrul *Synergy HI Hybrid Multi-Mode Microplate Reader* (BioTek Instruments, USA) (figura 3).

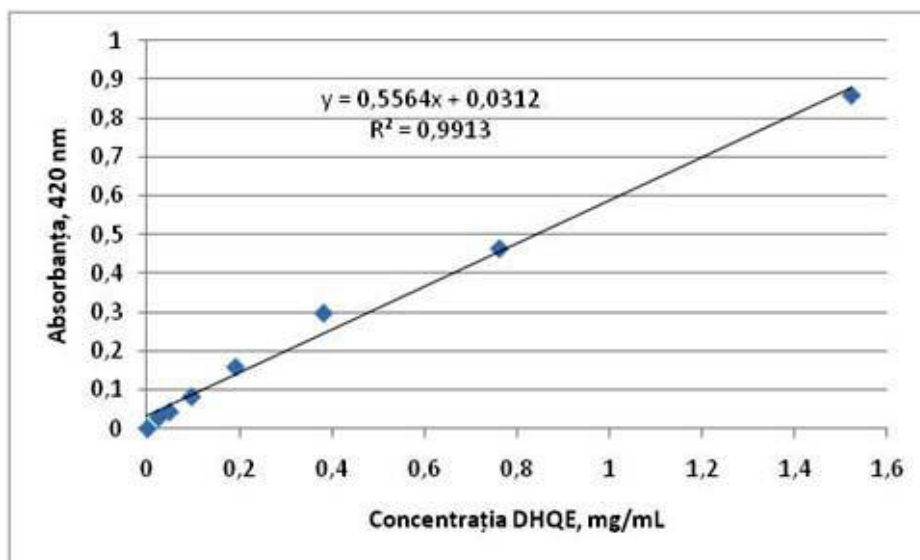


Figura 3. Curba de calibrare a DHQE, mg/mL.

Conținutul total de polifenoli (CTP) a fost determinat prin metoda spectrofotometrică după *Folin-Ciocalte*. Principiul metodei constă în oxidarea grupelor hidroxil ale compușilor polifenolici de reactivul Folin-Ciocalteu cu formarea unui amestec de oxid tungsten (W_8O_{23}) și oxizi de molibden (Mo_8O_{23}) colorați în albastru. Intensitatea colorării este proporțională cu cantitatea totală de compuși polifenolici prezenți în proba analizată și s-a măsurat la spectrofotometrul *UV-VIS „Lambda-25”* (Perkin Elmer) la lungimea de undă 760 nm [126].

Evaluarea conținutului de fitosteroli a fost efectuată conform metodei elaborate în cadrul Laboratorului de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu” [127]. Principiul metodei se bazează pe capacitatea colesterol esterazei de a hidroliza esterii β -sitosterolului și derivații lui în β -sitosterol liber și acizi grași liberi. În prezența oxigenului, β -sitosterolul și derivații lui liberi sunt oxidați de către colesterol oxidază cu formarea peroxidului de hidrogen. Ultimul reacționează cu p-clorofenolul și 4-aminoantipirină în prezența peroxidazei din hrean cu formarea unui produs colorat. Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația de β -sitosteroli și este măsurată prin spectrofotometriere la 500 nm (figura 4) (*Synergy HI Hybrid Multi-Mode Microplate Reader* (BioTek Instruments, USA)).

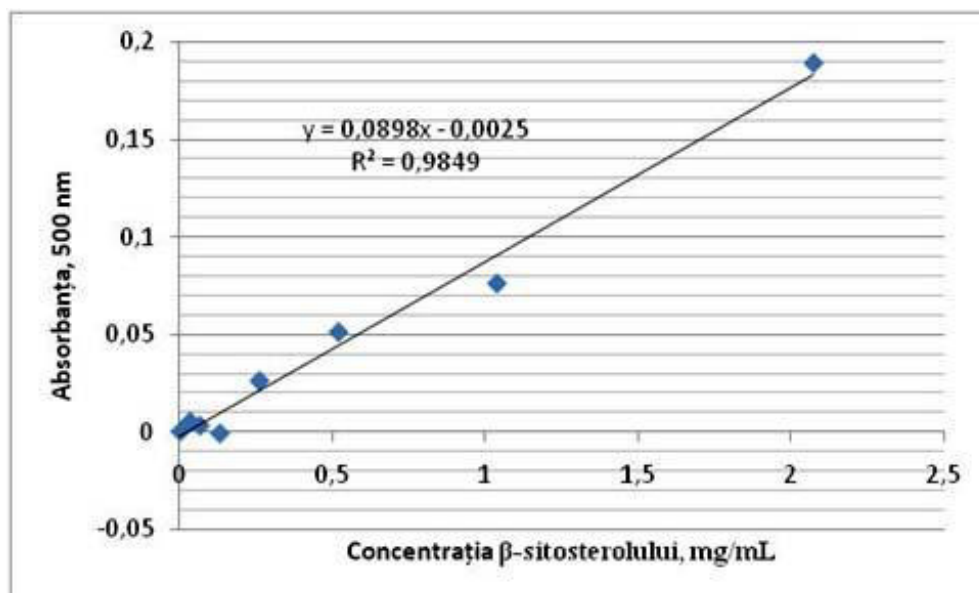


Figura 4. Curba de calibrare a β-sitosterolului, mg/mL.

Dozarea acizilor hidroxicorici s-a efectuat prin metoda HPLC-UV, descrisă în Farmacopeia Europeană pentru „Echinaceae purpureae herba” (Ph. Eur. 01/2008:1823) și „Echinaceae purpureae radix” (01/2008:1824) și modificată de colaboratorii Centrului științific al medicamentului, USMF „Nicolae Testemițanu”, pentru analiza extractelor de TO (figura 5) [128].

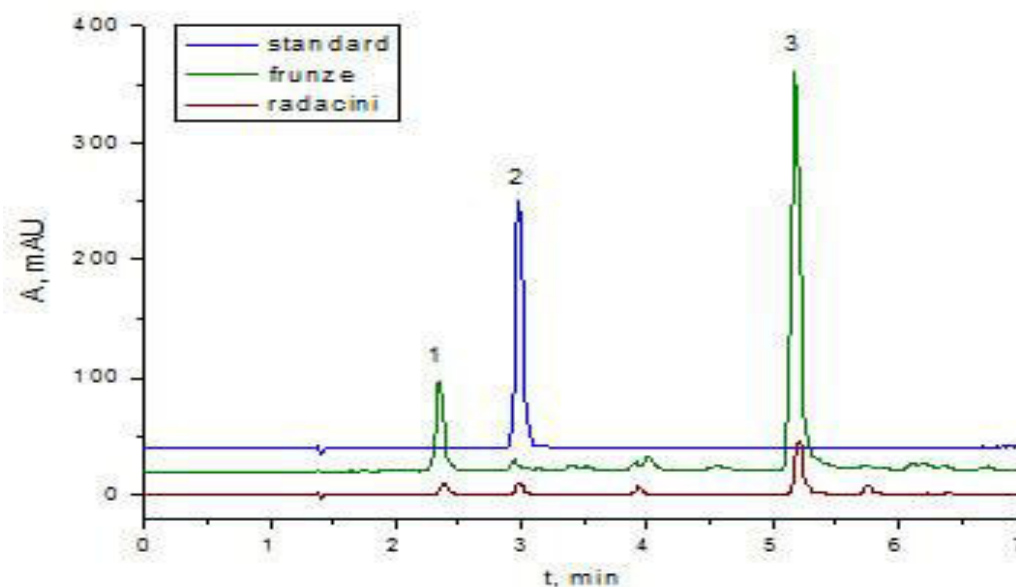


Figura 5. Cromatogramele obținute la analiza materiei prime de păpădie.

Notă: 1 – acid caftaric; 2 – acid clorogenic; 3 – acid cicoric.

3.2 Conținutul de CTF, CTP, fitosteroli și acizi hidroxicorici în extractele pe bază de DMSO și etanol din *Taraxacum officinale folici și radici*

Rezultatele evaluării compoziției chimice în extractele de TO sunt însumate în tabelul 1.

Tabelul 1. Conținutul substanțelor biologic active în *Taraxacum officinale*

Extractul	X±DS (mg/mL)						
	CTF	CTP	Fitosteroli	Suma acizilor hidroxicorici	Acid caftaric	Acid cicoric	Acid clorogenic
FDMSO	0.50±0.03	13.88±0.13	0.38±0.01	11.40±0.06	1.48±0.03	8.16±0.03	0.29±0.002
RDMSO	0.60±0.06	4.04±0.22	0.34±0.001	1.07±0.001	0.10±0.001	0.76±0.01	0.11±0.001
FEtOH20	4.61±0.001	31.40±1.08	1.11±0.12	33.80±1.72	5.16±0.11	23.80±1.11	0.88±0.01
REtOH20	1.74±0.1	2.00±0.01	0.59±0.003	1.68±0.03	0.55±0.02	0.65±0.01	0.10±0.001
FEtOH50	6.30±0.07	38.00±1.02	2.51±0.45	48.80±2.22	5.64±0.36	35.00±0.69	1.16±0.14
REtOH50	0.96±0.09	4.86±0.01	0.44±0.01	8.00±0.93	0.74±0.01	5.34±0.41	0.65±0.05
FEtOH80	6.52±0.15	11.52±0.01	2.34±0.40	4.96±0.39	0.18±0.001	2.26±0.11	0.29±0.003
REtOH80	1.28±0.16	8.30±0.42	0.46±0.03	3.14±0.06	0.11±0.002	1.62±0.01	0.54±0.002

Notă: CTF – conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli. Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L, FEtOH80 – 40,000 μg/L, RDMSO – 145,000 μg/L, REtOH20 – 95,000 μg/L, REtOH50 – 60,000 μg/L și REtOH80 – 50,000 μg/L.

Compoziția chimică a extractelor din frunze de *Taraxacum officinale*. Cel mai înalt conținut de flavonoizi a fost determinat în extractele pe etanol de 80% (6.52±0.15 mg/mL), deși diferențe statistic veridice cu extractele pe etanol de 50% (6.30±0.07 mg/mL) nu au fost determinate ($r_s=0.14$, $p=1.2$). Cel mai scăzut conținut de flavonoizi a fost înregistrat în cazul extractului pe DMSO (0.50±0.03 mg/mL).

Conținutul total de polifenoli (CTP) a variat în funcție de tipul extractantului și concentrația etanolului. Cel mai scăzut conținut a fost înregistrat la utilizarea a etanolului de 80% (11.52±0.01 mg/mL) și DMSO (13.88±0.13 mg/mL). Lider după conținutul de CTP a fost extractul pe etanol de 50% (38.00±1.02 mg/mL).

Evaluarea conținutului de fitosteroli ne-a permis să stabilim că întâietatea de asemenea a revenit extractelor pe etanol de 50% (2.51±0.45 mg/mL), concentrația minimală fiind înregistrată în cazul extracției pe DMSO (0.38±0.01 mg/mL).

La analiza conținutului sumar al acizilor hidroxicorici, cea mai înaltă cantitate a fost înregistrată ca și în cazul precedent, în extractele pe etanol de 50% (48.80±2.22 mg/mL), iar cel mai scăzut în cazul extractului pe etanol de 80% (4.96±0.39 mg/mL) și DMSO (11.40±0.06 mg/mL).

Extracția acidului caftaric a fost mai productivă în cazul etanolului de 50% (5.64 ± 0.36 mg/mL), iar creșterea concentrației alcoolului a diminuat brusc acest proces (0.18 ± 0.001 mg/mL). Aceeași eficiență a extractelor a fost determinată și în cazul extracției acidului cioric.

Pentru acidul clorogenic cel mai eficient extractant a fost etanolul de 50% (1.16 ± 0.14 mg/mL), iar conținutul minimal a fost determinat la utilizarea etanolului de 80% (0.29 ± 0.003 mg/mL) și DMSO (0.29 ± 0.002 mg/mL).

Compoziția chimică a extractelor din rădăcini de Taraxacum officinale. Flavonoizii au fost cel mai bine extrași la utilizarea etanolului de 20% (1.74 ± 0.1 mg/mL) și 80% (1.28 ± 0.16 mg/mL), cantitatea minimă fiind înregistrată în extractul pe DMSO (0.60 ± 0.06 mg/mL).

Conținutul total de polifenoli a fost cel mai ridicat la utilizarea etanolului de 80% (8.30 ± 0.42 mg/mL), iar cel mai scăzut a fost în cazul etanolului de 20% (2.00 ± 0.01 mg/mL) (tabelul 1).

Extracția fitosterolilor s-a dovedit a fi mai eficientă în etanol de 20% (0.59 ± 0.003 mg/mL), concentrația minimă fiind atestată la utilizarea DMSO (0.34 ± 0.001 mg/mL).

Cantitatea sumară a acizilor hidroxiciorici s-a dovedit a fi mai mare la utilizarea etanolului de concentrație înaltă, 50% (8.00 ± 0.93 mg/mL) și 80% (3.14 ± 0.06 mg/mL), iar extracția pe DMSO s-a dovedit a fi mai puțin eficientă (1.07 ± 0.001 mg/mL).

Extracția acidului caftaric a fost mai eficientă la utilizarea etanolului de 50% (0.74 ± 0.01 mg/mL), cantitățile minime fiind înregistrate în extractele pe etanol de 80% (0.11 ± 0.002 mg/mL) și DMSO (0.10 ± 0.001 mg/mL).

Acidul cioric a fost maxim extras la utilizarea alcoolului etilic de 50% (5.34 ± 0.41 mg/mL), iar concentrația minimă a fost determinată în extractele pe etanol de 20% (0.65 ± 0.01 mg/mL) și DMSO (0.76 ± 0.01 mg/mL).

Extracția acidului clorogenic s-a dovedit a fi mai eficientă în etanol de concentrație înaltă, 50% (0.65 ± 0.05 mg/mL) și 80% (0.54 ± 0.002 mg/mL), iar utilizarea etanolului de 20% (0.10 ± 0.001 mg/mL) și DMSO (0.11 ± 0.001 mg/mL) nu ar putea fi considerată ca cea mai bună alegere.

3.3 Studiul comparativ al compoziției chimice al *Taraxacum officinale*

Conform datelor publicate de Mariano *et al.* (2020) solvenții se deosebesc după biocompatibilitate și abilitatea lor de a dizolva diverse clase de compuși chimici [133]. În studiul nostru am utilizat extractanți cu diversă capacitate de dizolvare, în particular compușii volatili, polifenolii și sterolii. DMSO se consideră că posedă proprietăți înalte de solubilizare atât pentru compușii polari, cât și cei non-polari, astfel fiind capabil de a extrage majoritatea componentelor ce formează fitocomplexul chimic al TO. Competitiv, etanolul deși predominant asigură extragerea moleculelor polare, într-o rată mai joasă poate dizolva și compușii non-polari.

Conform datelor prezentate de Kristó *et al.* (2003) frunzele de TO conțin o cantitate mai mare de triterpene (528 – 551.1 mg/100g) comparativ cu rădăcinile (321.2 – 340.9 mg/100g), ceea ce corespunde cu rezultatele studiului nostru [134]. Totodată autorii în cauză au demonstrat că, rădăcinile sunt mai bogate în fitosteroli (41.2 – 46.7 mg/100g) comparativ cu partea foliară a plantei (34.3 – 38.5 mg/100g). Aceste date de asemenea corespund cu rezultatele studiului nostru, unde conținutul foliar de fitosteroli a dominat față de rădăcini. Faptul că, conținutul în cazul extractelor noastre pare a fi puțin mai scăzut, ar putea fi explicat prin sezonul de recoltare, care nu a fost indicat de către autori sau metoda de cuantificare. Drept exemplu, conform datelor prezentate de González-Castejón *et al.* (2012) din fitosterolii liberi, sitosterolul, campesterolul și stigmasterolul predomină în frunzele de TO, însă raportul cantitativ depinde de sezon: iarna predomină metil sterolii liberi, iar la abundența luminii solare esterii cicloartenolului și sitosterolului [2].

Studiul realizat ne permite să susținem ideea existentă în literatură că, cantitatea compusului extras depinde de tipul extractantului și mecanismul de extragere. Kristó *et al.* (2003) au determinat că extracția supercritică (450 bar, 65⁰C) a β -sitosterolului din rădăcini a rezultat cu 25.3 mg/100g față de extracția Soxhlet cu etanol (18.1 mg/100g) sau n-hexan (19.3 mg/100g). În cazul frunzelor același component a constituit 146 mg/100 g (Soxhlet cu etanol), 134.7 mg/100 g la extragerea Soxhlet cu n-hexan și 123.4 mg/100 g la extragerea supercritică [134]. Autorii au concluzionat că, aceste date vorbesc despre starea liberă a fitosterolilor în componența TO. Un alt exemplu elocvent, sunt datele raportate de Petkova *et al.* (2015) care prezintă că extracția cu apă, consecutivă unui tratament prealabil cu etanol, a oferit o extracție mai bună decât la utilizarea solitară a etanolului de 95%, atât pentru extracția CTP, cât și a flavonoizilor și derivaților acidului dihidroxicinamic [135]. Din datele studiului nostru rezultă că, etanolul de 50% este mai efektiv în extracția polifenolilor, decât etanolul de concentrații extreme sau DMSO. Aceste rezultate coincid cu datele prezentate relativ recent de către Khan *et al.* (2018), care susțin utilizarea preferențială a etanolului de 50% (691.6 mg GAE/g), comparativ cu

apa (41.47 mg GAE/g) [136]. În plus, datele prezentate de Xue *et al.* (2017) prezintă etanolul în calitate de extractant al cărui proprietăți nu sunt modificate nici după adăugarea a altor solvenți, cum ar fi acidul formic [137]. Ultimul însă a îmbunătățit proprietățile extractive ale apei și etanolului de 80%. O altă evidență despre importanța extractantului a fost furnizată de Khan *et al.* (2018) care au demonstrat că, conținutul de CTP la utilizarea etanolului de 50% este mai mare (692 mg/g GAE) comparativ cu extractele hidrice (42 mg/g GAE) [136]. Contradictorii însă sunt rezultatele prezentate de Mir *et al.* (2013) care certifică că, la utilizarea apei în calitate de extractant conținutul de fenoli în rădăcini este mai mare (22%) comparativ cu metanolul (18%) [138].

În literatura de specialitate este stipulat că, triterpenele sunt extrase mai bine la utilizarea etanolului. Cauza posibilă invocată de Kristó *et al.* (2003) este că triterpenele din TO sunt prezente în formă glicozidică, din care motiv etanolul s-a dovedit a fi mai efectiv decât metoda supercritică, care de fapt este apolară [134]. În cazul studiului nostru etanolul s-a dovedit a fi mai efectiv în extragerea triterpenelor și flavonoizilor decât DMSO, care după datele din literatură este efectiv atât pentru compușii polari, cât și non-polari. Trebuie să subliniem că concentrația optimă a etanolului pentru extragerea acestor compuși a fost în relație cu partea plantei: flavonoizii din frunze au fost extrași mai bine la concentrații ridicate ale alcoolului (50-80%), iar în cazul rădăcinilor la concentrații scăzute (de 20%). În cazul fenolilor concentrația de 50% s-a dovedit a fi mai efectivă, iar la rădăcini cea de 80%. Conform datelor prezentate de Xue *et al.* (2017) conținutul total de fenoli obținuți prin extracție pe etanol de 50% este mai mare comparativ cu alcoolul de 80% [137]. Totodată conținutul de flavonoizi a fost similar. Recent, Dedic *et al.* (2022) au stabilit că, conținutul de fenoli în părțile aeriene ale TO este mai înalt decât în rădăcini, ceea ce corespunde cu rezultatele noastre [139].

Conform datelor prezentate de González-Castejón *et al.* (2012) cel mai ridicat conținut dintre compușii fenolici din frunzele și florile de TO îl au derivații acidului hidroxicinamic, în special esterii acidului cafeic, cum ar fi acizii clorogenic, cicoric (dicafeoil tartaric) și monocafeoil tartaric [2]. În cazul studiului nostru am determinat că, atât suma acizilor hidroxicorici, cât și conținutul solitar al acizilor cicoric, caftaric și clorogenic este mai mare în frunze decât în rădăcini. Conform datelor prezentate de Stylianou *et al.* (2014) conținutul acestor acizi depinde de sezonul de recoltare: în frunze cantitatea de acid cicoric este maximală la începutul înfloririi (51.77 mg/g), iar în rădăcini după înflorire (4.89 mg/g) [140]. Mai mult, Ivanov *et al.* (2014) au demonstrat că extracția acestor acizi este în funcție de tipul extractantului [141]. Astfel derivații acidului hidroxicinamic care nu au fost prezenți în extractele hidrice (80°C, 1 oră) din frunze de TO, au atins cote maxime în etanolul de 50% (acidul clorogenic – 37

mg/100g, cafeic – 22 mg/100g, cioric – 3148 mg/100g), rezultate net superioare utilizării etanolului concentrat de 96% (acidul clorogenic – 18 mg/100g, cafeic – 15 mg/100g, cioric – 484 mg/100g). Utilizarea preferențială a etanolului de 50% în calitate de extractant este valabilă nu numai în cazul TO, fiind propusă inițial de către Tsai *et al.* (2011) în cazul *Echinacea purpurea* [142]. Desigur și alți extractanți și-au dovedit eficacitatea în a extrage compuși bioactivi ai TO. De exemplu, recent Epure *et al.* (2022) au determinat după extragere prealabilă cu diclormetan în Soxhlet și ulterioară preparare a tincturii de TO (1:10 g/g w/w, 50 g frunze uscate, 500 g 70% etanol, macerare 7 zile la t⁰ camerei) 9.7±3.6 mg acid cioric /g DW de derivați ai acidului cafeic, 13.15±0.81 mg GAE/g DW de CTP și 6.87±0.34 mg RE/g DW de flavonoizi [143]. Totuși această metodă pare a fi puțin eficientă dacă am compara, drept exemplu cantitatea de acid cioric (716.311±6.44 μg/mL) extrasă de autori, cu extracția clasică pe care am realizat-o noi pe etanol de 50% (35000±690 μg/mL). Mecanismul de acțiune al acestor acizi este în permanență reevaluat și completat. La moment se cunoaște că, acizii în cauză activează glicoliza stimulând glucokinaza, care catalizează fosforilarea glucozei la glucozo-6-fosfat [144]. În plus, drept țintă ai acizilor menționați sunt enzimele cruciale ale glicolizei și ciclului Krebs, precum fosfofructokinaza, hexokinaza și piruvatkinaza.

În concluzie, trebuie să menționăm că *Taraxacum officinale* reprezintă o sursă importantă de polifenoli, acizi triterpenici, flavonoizi și fitosteroli. Conținutul cantitativ al acestor compuși depinde de tipul extractantului, concentrația acestuia și partea plantei. Pentru extracția polifenolilor și acizilor fenolici foliari mai efectiv s-a dovedit a fi etanolul de 50%. Polifenolii radiculari au fost supuși extracției mai bine în cazul utilizării alcoolului etilic de 80%, iar acizii fenolici în etanol de 50%. Flavonoizii și fitosterolii foliari au înregistrat cantități majore la utilizarea etanolului de concentrație înaltă. Aceeași compuși din rădăcină de TO au fost extrași mai bine la utilizarea alcoolului etilic de 20%.

4. INFLUENȚA EXTRACTELOR DIN *TARAXACUM OFFICINALE* ASUPRA SISTEMULUI ANTIOXIDANT ENZIMATIC ȘI HOMEOSTAZIEI TIOL-DISULFIDICE

Radicalii liberi (RL) reprezintă atomi, ioni sau molecule cu electronii de pe orbitalul extern neîmperecheați, cu o reactivitate chimică deosebită și o tendință accentuată de a ataca alte molecule pentru a le sustrage electronul necesar stabilizării. RL participă la reacții în lanț, de adiție și substituție radicalică care destabilizează lipidele, proteinele, ADN-ul. Acești radicali pot fi generați atât de surse endogene (precum sistemul enzimatic al reticulului endoplasmatic sau sistemul oxidant NADPH dependent, care intervine în procesele inflamatorii), cât și exogene (radiații, agenți poluanți, ultrasunete, microunde) [145]. Formarea radicalilor este redusă în cadrul metabolismului aerob, însă cantitatea și nocivitatea acestora crește odată cu diminuarea capacității antioxidante defensive.

Celula posedă în arsenal un șir de mecanisme și resurse cu proprietăți antioxidante, inclusiv enzime, precum superoxid dismutaza (SOD), catalaza (CAT), glutation peroxidaza (GPx), glutation S-transferaza (GST) și glutation reductaza (GR). De rând cu enzimele, organismul uman a dezvoltat un sistem de apărare eficient, implicând sistemul tiol-disulfidic, cu sediu plasmatic și celular.

Tiolii reprezintă compuși nucleofili, susceptibili la atacuri electrofile, care funcționează în calitate de sistem de captare a radicalilor liberi și speciilor reactiv oxidante (de oxigen, de azot și carbonil reactive). Acești compuși polarizează legătura –SH, astfel diminuând constanta de disociere și cresc vulnerabilitatea la modificările oxidative.

Glutacionul reprezintă o tripeptidă, care reduce la cisteină legăturile disulfidice formate în cazul proteinelor citoplasmice, eliberând un electron. În cadrul acestui proces glutacionul este transformat în GSSG, forma sa oxidată sau glutation-disulfidic. Acesta este ulterior redus la GSH de către GR, în prezența NADPH.

În acest studiu am evaluat acțiunea extractelor din TO asupra sistemului antioxidant enzimatic (SOD, CAT, GPx, GST și GR), precum și conținutului de grupuri SH totale și SH libere, glutacionului total, precum și fracțiilor sale, oxidată și redusă.

4.1 Material și metode. În acest studiu au fost incluse 8 extracte din frunze și rădăcini de TO cu concentrațiile: FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L, FEtOH80 – 40,000 μg/L, RDMSO – 145,000 μg/L, REtOH20 – 95,000 μg/L, REtOH50 – 60,000 μg/L și REtOH80 – 50,000 μg/L. În calitate de sursă enzimatică au servit eritrocitele persoanelor sănătoase (Capitolul 2, pag.41).

Determinarea activității superoxid dismutazei (SOD) a fost efectuată conform procedurilor descrise de Дубинина Е.Е. (1983) și Разыграев А.В. (2006), în modificarea Tagadiuc *et al.* (2010) [146].

Principiul micrometodei are la bază capacitatea enzimei de a inhiba reducerea sării de nitro-blue tetrazoliu (NBT) în formazan, cantitatea cărui se estimează prin spectrofotometriere la 540 nm. În calitate de unitate a activității SOD a fost luată cantitatea de enzimă necesară pentru inhibiția a 50% a reacției de reducere a NBT. Activitatea enzimei a fost raportată în unități convenționale la 1 g de Hb (u/gHb).

Activitatea catalazei (CAT) exprimată în $\mu\text{M/gHb}$ a fost evaluată conform procedurii descris de Королюк *et al.* (1988), în modifierea noastră [147]. Determinarea activității CAT a avut la bază proprietatea enzimei de a cataliza reacția de scindare a H_2O_2 cu formarea H_2O și O_2 .

Peroxidul de hidrogen formează cu molibdatul de amoniu un compus complex de culoare galbenă. În procesul reacției are loc diminuarea cantității de H_2O_2 , proces corelat cu decolorarea soluției, gradul căreia într-o unitate de timp este direct proporțională cu activitatea enzimei.

Determinarea activității glutatation peroxidazei (GPx) a fost efectuată conform procedurii descris de Кулинский *et al.* (2007), în modificarea Tagadiuc *et al.* (2012) [148]. Micrometoda elaborată a fost bazată pe capacitatea enzimei de a oxida peroxidul de hidrogen (H_2O_2) în prezența glutatationului redus (GSH), care a fost donorul de electroni. Glutatationul oxidat (GSSG), produs după reducerea H_2O_2 este reciclat la starea sa redusă de către glutatation reductază (GR) și NADPH. Concomitent are loc reacția de oxidare a coenzimei NADPH, ceea ce duce la micșorarea absorbției la 340 nm, fapt ce corelează cu activitatea enzimei în proba de cercetat.

Activitatea enzimei a fost calculată, reieșind din coeficientul molar de absorbție al NADPH-ului (la 37°C și 340 nm, $\epsilon = 6,22 \mu\text{mol}\cdot\text{cm}^{-1}$), iar rezultatul exprimat în $\mu\text{M/gHb}$.

Dozarea activității glutatation S-transferazei (GST) a fost efectuată conform procedurii descris de Habig *et al.* (1974), în varianta modificată de Tagadiuc *et al.* (2012) [149]. Metoda elaborată are la bază capacitatea enzimei de a cataliza reacția de conjugare a glutatationului redus (GSH) cu 1-clor-2,4-dinitrobenzenul (CDNB), ceea ce duce la creșterea absorbției, măsurată la 340 nm. Valoarea absorbției a fost direct proporțională cu activitatea enzimei în proba de cercetat.

Activitatea enzimei a fost evaluată, reieșind din coeficientul molar de absorbție al complexului CDNB cu GSH ($\epsilon = 9,6 \mu\text{mol cm}^{-1}$) și exprimată în $\mu\text{M/gHb}$.

Determinarea activității glutatation reductazei (GR) a fost efectuată conform metodei descrisă de Кулинский В. И. *et al.* (2009), în modificarea lui Gudumac *et al.* [150].

Micrometoda are la bază capacitatea enzimei de a reduce glutationul oxidat /GSSG în glutation redus /GSH. Concomitent are loc reacția de oxidare a coenzimei NADPH, fapt ce determină modificarea absorbanței, la 340 nm, corelată cu activitatea enzimei. Activitatea enzimei a fost calculată, reieșind din coeficientul molar de absorbție al NADP-ului (37°C, 340 nm, $\epsilon = 6,22 \mu\text{mol}\cdot\text{cm}^{-1}$), iar rezultatele au fost prezentate în $\mu\text{M}/\text{gHb}$.

Dozarea glutationului total a fost realizată conform procedurii descrise de Akerboom *et al.* (1981), în modificarea propusă de Andronache *et al.* (2014) [151]. Metoda a constat în determinarea glutationului total în materialul biologic în baza formării compusului colorat dintre glutationul redus și 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) în mediul de reacție ce conține NADPH (figura 6).

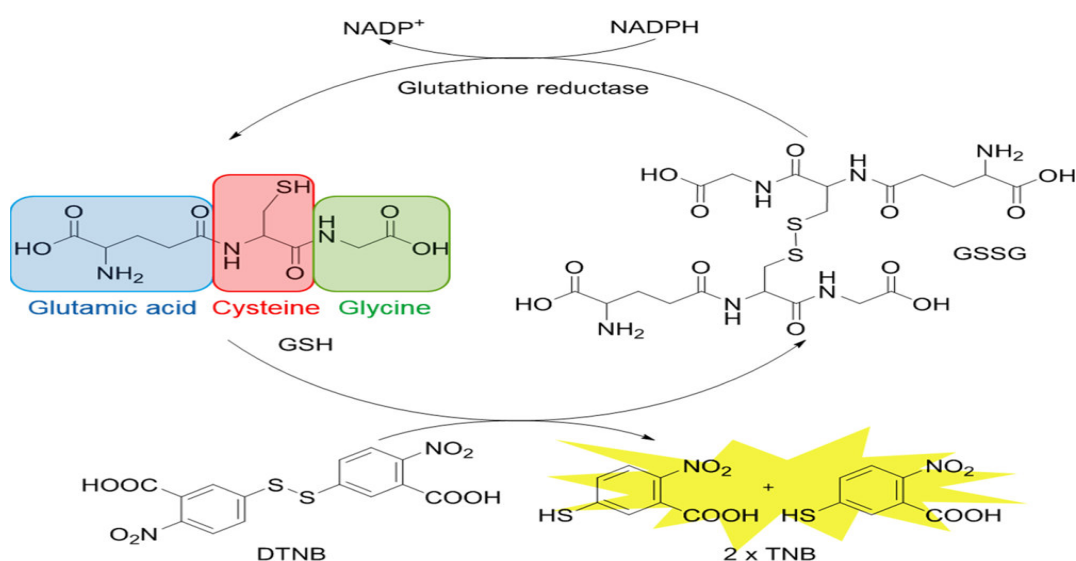


Figura 6. Ciclul enzimatic redox pentru determinarea cantitativă a glutationului total și oxidat cu ajutorul protocolului spectrofotometric cu DTNB după Tietze (1969).

Cantitatea de glutation s-a calculat după curba de calibrare, care a fost construită în baza diluțiilor succesive ale soluției standard stoc de 10 mM GSH și a fost exprimată în $\mu\text{M}/\text{gHb}$.

Determinarea conținutului de grupări tiolice ale proteinelor a fost realizată conform procedurii de evaluare descris de Ellman *et al.* (1994) în modifiacția lui Gudumac *et al.* (2012), pe lizat eritrocitar [152]. Metoda utilizată este bazată pe interacțiunea dintre DTNB și grupele tiolice ale proteinelor, cu formarea unui compus colorat. Citirea rezultatelor a fost efectuată la reader-ul spectrofotometric, la 412 nm (figura 6). Cantitatea de SH grupe proteice (exprimată în mM/L și recalculată în $\mu\text{M}/\text{gHb}$) a fost determinată conform formulei 1.

Formula

$$\text{SH grupele proteice (mM/L)} = \frac{1000}{[\text{PT}]} \times \frac{A}{\Sigma} \times \frac{V_t}{V_p} \quad (1)$$

unde:

[PT] – concentrația de proteine în proba de cercetat;

A – absorbanta probei de cercetare;

V_t – volumul total al probei de cercetat, L;

V_p – volumul probei de cercetat;

Σ - coeficientul molar de extincție (13600 M⁻¹cm⁻¹) al DTNB.

4.2 Rezultatul acțiunii extractelor din *Taraxacum officinale* asupra sistemului antioxidant și homeostaziei tiol-disulfidice

Influența extractelor din TO asupra activității SOD. Extractele TOF au influențat SOD într-o manieră similară și anume în direcția stimulării activității enzimei (tabelul A1.8). Activitatea cea mai înaltă a SOD (50.71±0.12 u/gHb) a fost înregistrată după acțiunea extractelor realizate pe etanol de 20%, ceea ce a reprezentat +85.4% față de control (p=0.05). Activitatea acestei enzime a fost cel mai puțin influențată de extractele realizate pe DMSO, rezultate care nu au atins nici pragul statistic scontat.

Studiul de corelare dintre activitatea SOD și concentrația etanolului nu a pus în evidență careva asocieri statistic semnificative (r_s=0.19, p=0.25).

Influența extractelor TOR asupra SOD a fost neuniformă (tabelul A2.9). Toate extractele utilizate în acest studiu au stimulat activitatea SOD statistic semnificativ. Cea mai impunătoare influență a fost înregistrată în cazul extractului pe DMSO (50.10±10.73 u/gHb), rezultat echivalent cu +83.9% față de control (p=0.02), urmat de extractul realizat pe etanol de 50% (27.26±1.81 u/gHb sau +54.9%, p=0.05).

Analiza de corelare dintre concentrația etanolului utilizat în extractele TOR și activitatea SOD nu a depistat asocieri statistic semnificative (r_s=0.09, p=0.38).

La compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR am determinat, că acțiunea lor asupra activității SOD a fost una diferită (tabelul A3.10). Astfel la compararea extractelor pe DMSO am concluzionat că extractele radiculare stimulează mai puternic activitatea SOD (p=0.05). Deși acțiunea TOF extrase în etanol de 80% au indicat o influență mai mare comparativ cu TOR, eseurile comparative nu au atins cote statistic veridice (p=0.13). O astfel de tendință s-a păstrat și

în extractele realizate pe etanol de 20%, doar că în aceste cazuri diferențele au fost statistic semnificative ($p=0.05$) (tabelul A3.10).

Acțiunea extractelor din TO asupra activității CAT. Toate extractele cercetate au micșorat activitatea CAT, cu excepția extractului etanolic de 80% din frunze ($43.83 \pm 1.18 \mu\text{M/gHb}$ sau +15.2%, $p=0.05$). Frunzele de TO au influențat activitatea catalazei neuniform, în funcție de tipul extractantului și concentrația acestuia (tabelul A1.8). În cazul extractului TOF pe DMSO activitatea CAT a fost evaluată cu $6.84 \pm 0.16 \mu\text{M/gHb}$, rezultat cu -86.2% mai mic decât controlul ($p=0.05$). În cazul extractelor realizate pe etanol cel mai puternic activitatea CAT a fost diminuată după acțiunea extractelor TOF pe etanol de 20% ($23.79 \pm 2.31 \mu\text{M/gHb}$ sau -47.2% comparativ cu controlul, $p=0.05$).

Studiul de corelare nu a înregistrat asocieri statistic semnificative dintre activitatea CAT și concentrația alcoolului etilic din extractele de TOF ($r_s=-0.33$, $p=0.11$).

Neuniformă după acțiune s-a dovedit a fi și influența extractelor TOR asupra activității CAT. Cea mai impunătoare diminuare s-a determinat în urma acțiunii extractului de TO pe DMSO ($26.17 \pm 9.84 \mu\text{M/gHb}$ sau -42.3%, $p=0.02$) (tabelul A2.9).

În cadrul analizei statistice de corelare am determinat că activitatea CAT este invers proporțională la concentrația etanolului utilizat pentru extractele TOR ($r_s=-0.73$, $p=0.001$).

Analiza comparativă a acțiunii TOR și TOF asupra activității CAT a pus în evidență diferențe statistic veridice dintre extractele de TO realizate pe DMSO și etanol de 20% ($p=0.05$). În celelalte cazuri valorile comparative nu au atins cote semnificativ statistice (tabelul A3.10).

Influența extractelor din TO asupra activității GPx. Rezultatele obținute relevă că extractele TOF preponderent stimulează activitatea acestei enzime, cea mai înaltă activitate GPx înregistrând după influența extractelor realizate pe DMSO ($255.74 \pm 19.60 \mu\text{M/gHb}$ sau +46.3%, $p=0.05$) și etanol de 20% ($236.99 \pm 24.58 \mu\text{M/gHb}$ sau +45.7%, $p=0.05$) (tabelul A1.8).

Studiul statistic a pus în evidență o asociere medie, negativă dintre activitatea și concentrația alcoolului etilic utilizat în extractele TOF ($r_s=-0.52$, $p=0.02$).

Influența extractelor din rădăcini de TO asupra activității antioxidante a GPx a fost una neomogenă (tabelul A2.9). Cea mai pronunțată acțiune stimulatorie am determinat în cazul TOR pe etanol de 80% ($221.97 \pm 6.37 \mu\text{M/gHb}$ sau +84%, $p=0.05$).

Prin utilizarea eseurilor statistice am determinat că concentrația etanolului din extractele TOR nu influențează activitatea GPx ($r_s=0.23$, $p=0.21$).

La compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR am determinat că, activitatea GPx este mai mare după acțiunea extractelor din frunze de TO, realizate pe DMSO ($p=0.05$) și etanol de 20% ($p=0.05$) (tabelul A3.10). Dat fiind faptul că, acțiunea extractului din frunze de TO nu a

înregistrat diferențe semnificativ statistice față de control, putem indica cu certitudine că diferențe veridice dintre TOF și TOR au fost doar în cazul extractelor pe DMSO și etanol de 20%.

Acțiunea extractelor din TO asupra activității GST. În cazul GST toate extractele realizate din frunze de TO au exercitat efecte stimulatorii (tabelul A1.8). Cele mai promițătoare acțiuni au fost determinate în urma influenței extractelor de TOF pe etanol de 80% ($29.71 \pm 1.38 \mu\text{M/gHb}$ sau +160%, $p=0.05$).

Studiul de corelație a pus în evidență o asociere foarte înaltă dintre activitatea GST și concentrația etanolului din extractele de TOF ($r_s=0.94$, $p=0.0001$).

Influența TOR asupra activității GST s-a dovedit a fi una eterogenă. Cea mai înaltă activitate stimulatorie a fost înregistrată după acțiunea extractelor pe DMSO ($24.84 \pm 2.45 \mu\text{M/gHb}$ sau +72%, $p=0.02$), urmate de cele etanolice de 20% ($26.39 \pm 0.46 \mu\text{M/gHb}$; +28.9%, $p=0.05$) și 50% ($23.32 \pm 1.89 \mu\text{M/gHb}$; +10%, $p=0.04$) (tabelul A2.9).

Analiza statistică de corelare a pus în evidență o asociere de grad rezonabil, inversă dintre activitatea GST și concentrația alcoolului etilic utilizat în extractele TOR ($r_s=-0.59$, $p=0.01$).

Compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR a pus în evidență multiple diferențe statistice semnificative dintre TOF și TOR, cu excepția extractelor realizate pe DMSO (tabelul A3.10). Valorile GST, obținute în urma acțiunii extractelor din rădăcini pe etanol de 20% au prevalat, comparativ cu valorile obținute după acțiunea extractelor din frunze. În rest, rezultatele statistice au susținut supremația frunzelor, în ceea ce privește activitatea GST.

Influența extractelor din TO asupra activității GR. Extractele din frunze de TO au realizat atât acțiuni stimulatorie, cât și inhibitorie, în funcție de tipul și concentrația extractantului (tabelul A1.8). Efectul stimulator a atins apogeul în cazul extractelor pe etanol de 50% ($23.95 \pm 2.19 \mu\text{M/gHb}$ sau +34.7%, $p=0.05$) și 80% ($22.66 \pm 0.47 \mu\text{M/gHb}$ sau +34.6%, $p=0.05$). Totodată acțiune inhibitorie s-a determinat după utilizarea extractelor realizate pe etanol de concentrație joasă, de 20% ($10.06 \pm 1.30 \mu\text{M/gHb}$ sau -50.4%, $p=0.05$).

Activitatea GR s-a dovedit a fi dependentă de concentrația alcoolului etilic utilizat în extractele TOF, înregistrând asocieri statistice foarte înalte ($r_s=0.81$, $p=0.0001$).

Rădăcinile de TO au demonstrat practic, o acțiune inhibitorie univocă asupra activității GR (tabelul A2.9). Cea mai puternică influență a fost depistată în cazul extractului pe etanol de 50% ($20.42 \pm 0.001 \mu\text{M/gHb}$ sau -31.4%, $p=0.04$). Unicul efect stimulator înregistrat de TOR a fost în cazul extractului pe etanol de 20% (+2.3%), valori care nu au atins însă pragul statistic ($p=0.51$).

Eseurile statistice au pus în evidență corelații de talie rezonabilă, negative dintre activitatea GR și concentrația extractantului utilizat pentru TOR ($r_s=-0.49$, $p=0.03$).

În cadrul studiului comparativ al acțiunii extractelor din TOF și TOR am determinat că, frunzele de TO au stimulat mai puternic decât rădăcinile activitatea GR după extracție realizată pe DMSO ($p=0.05$) și etanol de 50% ($p=0.04$) și 80% ($p=0.05$) (tabelul A3.10). În rest datele statistice au susținut supremația părților subterane.

Acțiunea extractelor din TO asupra sistemului antioxidant în funcție de compoziția extractelor. Activitatea SOD a fost stimulată, atingând cote maxime la acțiunea extractelor din frunze pe etanol de 20% (50.71 u/gHb) și rădăcini pe DMSO (50.10 u/gHb) (tabelul A7.14). În primul caz concentrația compușilor chimici a fost următoarea: CTP – 31.4 mg/mL, acid caftaric (AC) – 5.16 mg/mL, acid cicoric (ACh) – 23.8 mg/mL, acid clorogenic (ACG) – 0.88 mg/mL, acizi hidroxicorici (Ahx) – 33.8 mg/mL, CTF – 4.61 mg/mL, fitosterolii (Fts) – 1.11 mg/mL. În cazul rădăcinilor combinația a fost diferită: CTP – 4.04 mg/mL, AC – 0.1 mg/mL, ACh – 0.76 mg/mL, ACG – 0.11 mg/mL, Ahx – 1.07 mg/mL, CTF – 0.6 mg/mL, Fts – 0.34 mg/mL. Trebuie să subliniem faptul că în ambele cazuri, activitatea maximă a SOD nu a coincis cu concentrația maximă a compușilor. Activitatea minimă a SOD (27.74 u/gHb) a fost determinată în cazul extractului foliar pe DMSO la următoarea combinație a compușilor: CTP – 13.9 mg/mL, AC – 1.48 mg/mL, ACh – 8.16 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 11.4 mg/mL, CTF – 0.5 mg/mL, Fts – 0.38 mg/mL.

CAT a fost cel mai tare stimulat în cazul extractului radicular pe etanol de 20% (48.04 μ M/gHb) la următoarea combinație a compușilor: CTP – 2 mg/mL, AC – 0.55 mg/mL, ACh – 0.65 mg/mL, ACG – 0.1 mg/mL, Ahx – 1.68 mg/mL, CTF – 1.74 mg/mL, Fts – 0.59 mg/mL. Activitatea minimală a CAT a fost determinată în cazul extractului din frunze pe DMSO, combinația compușilor fiind următoarea: CTP – 13.9 mg/mL, AC – 1.48 mg/mL, ACh – 8.16 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 11.4 mg/mL, CTF – 0.5 mg/mL, Fts – 0.38 mg/mL (tabelul A7.14). Trebuie să menționăm că, aceste activități nu au coincis cu concentrațiile extreme, maximală sau minimală, a compușilor testați.

În cazul GPx cea mai înaltă activitate a fost atestată la acțiunea extractului din frunze pe DMSO (255.74 μ M/gHb), care a cauzat diminuarea SOD și CAT la combinația compușilor: CTP – 13.9 mg/mL, AC – 1.48 mg/mL, ACh – 8.16 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 11.4 mg/mL, CTF – 0.5 mg/mL, Fts – 0.38 mg/mL. Activitatea minimală a GPx (132.71 μ M/gHb) atestată la acțiunea extractului foliar pe etanol de 50%, a coincis cu concentrațiile maxime ale compușilor: CTP – 38 mg/mL, AC – 5.64 mg/mL, ACh – 35 mg/mL, ACG – 1.16 mg/mL, Ahx – 48.8 mg/mL, CTF – 6.3 mg/mL, Fts – 2.51 mg/mL (tabelul A7.14).

În cazul GST activitatea maximală a fost înregistrată la acțiunea extractului din frunze pe etanol de 80% (29.71 μ M/gHb), la următoarea combinație a compușilor: CTP – 11.5 mg/mL, AC

– 0.18 mg/mL, ACh – 2.26 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 4.96 mg/mL, CTF – 6.52 mg/mL, Fts – 2.34 mg/mL. Diminuarea cea mai drastică a activității GST s-a atestat ca urmare a acțiunii extractului radicular pe etanol de 80% (16.15 μ M/gHb), concentrațiile compușilor fiind: CTP – 8.3 mg/mL, AC – 0.11 mg/mL, ACh – 1.62 mg/mL, ACG – 0.54 mg/mL, Ahx – 3.14 mg/mL, CTF – 1.28 mg/mL, Fts – 0.46 mg/mL (tabelul A7.14).

Activitatea GR a atins cote maxime la acțiunea extractului foliar pe DMSO (31.41 μ M/gHb), la combinația compușilor care totodată a diminuat acțiunea SOD și CAT, dar a stimulat GPx: CTP – 13.9 mg/mL, AC – 1.48 mg/mL, ACh – 8.16 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 11.4 mg/mL, CTF – 0.5 mg/mL, Fts – 0.38 mg/mL (tabelul A7.14). Acțiunea minimală a acestei enzime a fost determinată în cazul extractului foliar pe etanol de 20% (10.06 μ M/gHb), iar combinația compușilor a stimulat la maxim activitatea SOD: CTP – 31.4 mg/mL, AC – 5.16 mg/mL, ACh – 23.8 mg/mL, ACG – 0.88 mg/mL, Ahx – 33.8 mg/mL, CTF – 4.61 mg/mL, Fts – 1.11 mg/mL.

Influența TO asupra conținutului de grupuri SH. Extractele din TOF majoritar au diminuat conținutul de tioli (tabelul A4.11). Diminuarea cea mai pronunțată, statistic veridică de grupuri SH libere s-a atestat sub influența extractelor din frunze pe DMSO (3.30 \pm 0.31 μ M/gHb sau -14.2%, p=0.05), etanol de 20% (3.24 \pm 0.03 μ M/gHb sau -13.1%, p=0.05) urmate de etanol 80% (3.02 \pm 0.01 μ M/gHb sau -6.7%, p=0.05). În restul cazurilor, valorile nu au fost statistic diferite față de proba martor.

Similar cu conținutul de tioli liberi s-a modificat și cantitatea de tioli totali. Diminuarea cea mai pronunțată s-a determinat după acțiunea extractelor pe DMSO (3.79 \pm 0.08 μ M/gHb sau -10%, p=0.05), etanol de 20% (3.47 \pm 0.05 μ M/gHb sau -11.8%, p=0.05) și 80% (3.15 \pm 0.02 μ M/gHb sau -9.5%, p=0.05) (tabelul A4.11).

Calcululele ne-au permis să concludem că, -SH liberi reprezintă majoritatea din -SH totali. Astfel ca urmare a acțiunii FDMSO aceștia au reprezentat 87%, a FEtOH20 – 93.3%, FEtOH50 – 93.7% și 95.9% în FEtOH80.

Importanța concentrației alcoolului etilic utilizat pentru extracții a fost raportată prin valori corelaționale, negative, de putere medie (r_s =-0.55, p=0.02) atât în cazul tiolilor liberi, cât și în cazul tiolilor totali (r_s =-0.65, p=0.004).

Influența extractelor din rădăcini asupra conținutului de tioli liberi a fost una majoritar diminutivă. Micșorarea cea mai pronunțată s-a determinat sub influența extractelor din etanol de 50% (3.18 \pm 0.07 μ M/gHb sau -17.5%, p=0.05) (tabelul A5.12). În cazul extractelor pe DMSO și etanol de 80% rezultatele nu au fost statistic diferite comparativ cu proba martor.

Conținutul total de grupe –SH s-a diminuat sub acțiunea extractelor radiculare, cea mai pronunțată diminuare fiind atestată în cazul extractelor pe etanol de 50% ($3.38 \pm 0.17 \mu\text{M/gHb}$ sau -19.7%, $p=0.05$) (tabelul A5.12). În cazul extractului pe DMSO s-a determinat de asemenea o diminuare a conținutului total de –SH, însă aceste valori ($3.53 \pm 0.18 \mu\text{M/gHb}$ sau -6.2%) nu au fost diferite statistic de proba martor ($p=0.15$).

Similar frunzelor, grupele -SH libere au constituit majoritatea din tiolii totali calculați. După acțiunea RDMSO aceștia au reprezentat 91.4%, REtOH20 – 96.2%, REtOH50 – 93.9% și 94.9% în REtOH80.

Concentrația etanolului utilizat ca extractant s-a dovedit a fi importantă și în cazul rădăcinilor, înregistrând corelații negative, statistic veridice atât față de conținutul de grupuri SH libere ($r_s=-0.48$, $p=0.04$), cât și –SH total ($r_s=-0.55$, $p=0.02$).

La compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR asupra conținutului de tioli am determinat că, conținutul de tioli liberi s-a diminuat mai pronunțat ca urmare a acțiunii extractelor din frunze pe etanol de 20% și 80% (figura 7). Conținutul total de tioli s-a diminuat mai efectiv sub acțiunea frunzelor pe etanol de 20% (figura 8).

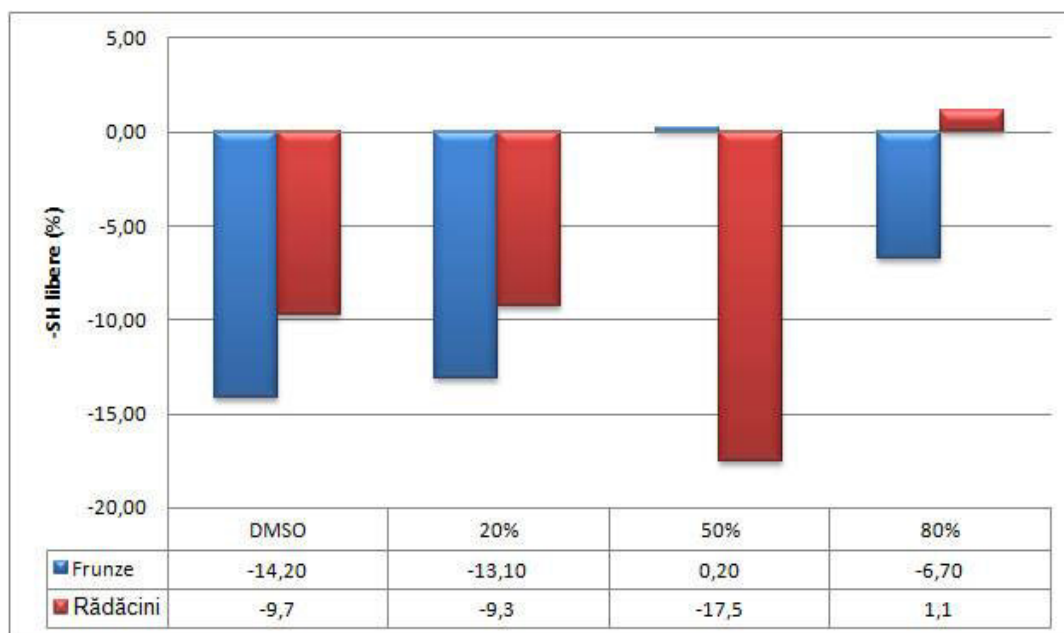


Figura 7. **Dinamica modificării conținutului de -SH liberi (%) față de proba martor – la acțiunea extractelor DMSO și etanolice ale frunzelor și rădăcinilor de TO.**

Notă: 20% – 80% concentrația etanolului.

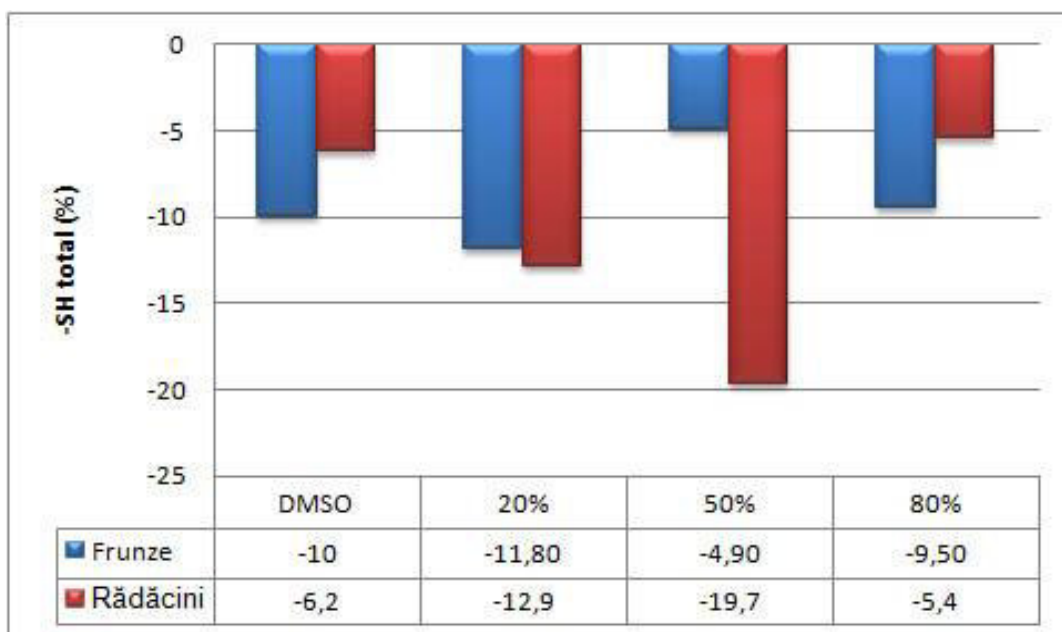


Figura 8. **Dinamica modificării conținutului total de -SH (%) față de proba martor la acțiunea extractelor DMSO și etanolice ale frunzelor și rădăcinilor de TO.**

Notă: 20% – 80% concentrația etanolului.

Acțiunea extractelor din TO asupra conținutului de glutatation. Extractele din frunze au modificat conținutul de GSH într-o manieră neomogenă (tabelul A4.11). Componentii activi din extractele realizate pe etanol de 50% ($14.62 \pm 2.15 \mu\text{M/gHb}$ sau +47.3%, $p=0.03$) și 80% ($18.01 \pm 1.02 \mu\text{M/gHb}$ sau +131.5%, $p=0.05$) au crescut concentrația de GSH comparativ cu proba martor. În restul extractelor testate conținutul de GSH s-a diminuat comparativ cu controlul, cele mai evidente fiind efectele extractelor pe DMSO ($13.98 \pm 2.82 \mu\text{M/gHb}$ sau -25.5%, $p=0.03$).

Conținutul de GSSG majoritar a crescut în urma acțiunii componentelor bioactive din frunze, cele mai active în acest sens fiind extractele realizate pe DMSO ($8.46 \pm 3.48 \mu\text{M/gHb}$ sau +123.1%, $p=0.05$) și etanol de 80% ($10.39 \pm 3.16 \mu\text{M/gHb}$ sau +144.9%, $p=0.05$). Deși în cazul extractelor pe etanol de 50% s-a atestat o diminuare a conținutului de GSSG, aceste valori nu au fost statistic diferite comparativ cu proba martor.

Acțiunea extractelor din frunze asupra conținutului total de glutatation a fost una stimulativă, înregistrând valori maxime la acțiunea extractelor realizate pe etanol de 50% ($23.35 \pm 2.79 \mu\text{M/gHb}$ sau +22.4%, $p=0.05$) și 80% ($28.40 \pm 2.14 \mu\text{M/gHb}$ sau +136.2%, $p=0.05$) (tabelul A4.11). Trebuie de menționat că, în restul cazurilor rezultatele nu au fost statistic diferite comparativ cu proba martor.

Ulterior am determinat care este cota procentuală din conținutul total a formelor oxidate și reduse de glutation (figura 9). Calculele au pus în evidență că GSH constituie majoritatea în toate cazurile: FDMSO – 62.3%, FEtOH20 – 57.3%, FEtOH50 – 62.6% și 63.4% în FEtOH80, fără diferențe statistice dintre acțiunea extractelor.

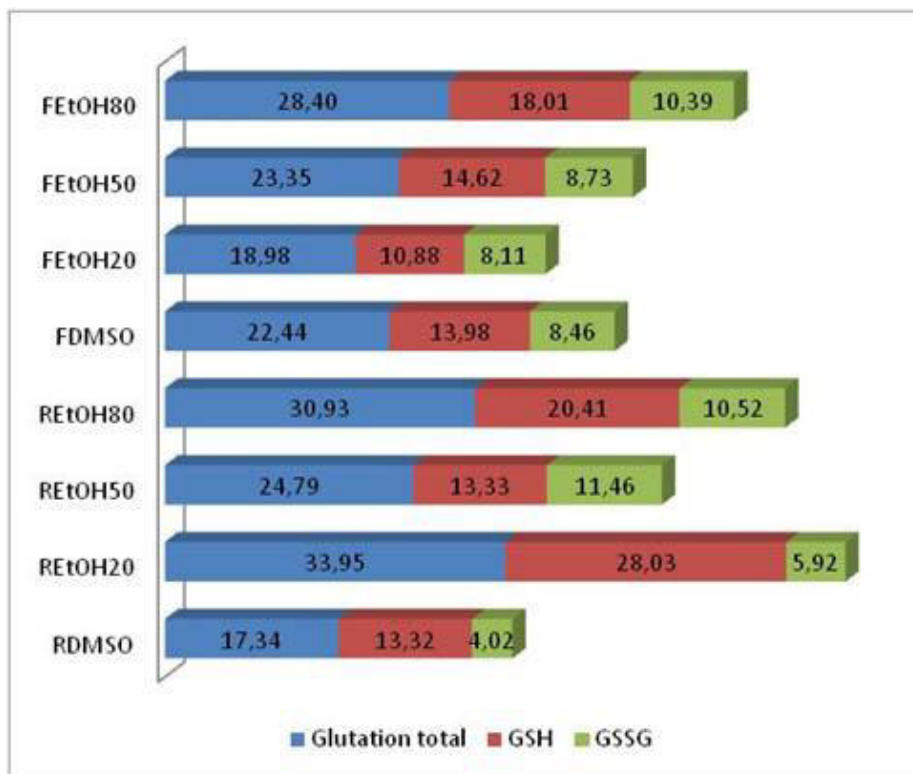


Figura 9. **Modificarea nivelului formelor de glutation ca urmare a acțiunii extractelor din TO.**

Notă: rezultatele reprezintă mediile în $\mu\text{M/gHb}$

Creșterea concentrației alcoolului etilic s-a dovedit a fi importantă, determinând creșterea sinergică atât a fracției de glutation oxidat ($r_s=0.47$, $p=0.04$), cât și a conținutului total ($r_s=0.45$, $p=0.05$). În cazul GSSG valorile corelaționale nu au atins pragul statistic scontat ($r_s=0.15$, $p=0.29$).

Analiza rezultatelor relevă, că extractele din rădăcini pot acționa atât în calitate de agenți de oxidare, cât și de reducere.

Cantitatea de GSH a crescut ca urmare a acțiunii componentelor bioactivi din extractele pe etanol de 20% ($28.03 \pm 1.14 \mu\text{M/gHb}$ sau +98%, $p=0.05$) și 80% ($20.41 \pm 0.90 \mu\text{M/gHb}$ sau +105.7%, $p=0.05$) (tabelul A5.12). Micșorarea de GSH s-a atestat sub influența extractelor pe etanol de 50% ($13.33 \pm 0.69 \mu\text{M/gHb}$ sau -29%, $p=0.05$). Valorile înregistrate în cazul RDMSO nu au fost statistic diferite de proba martor.

Concentrația de GSSG s-a majorat, cea mai impresionantă fiind la acțiunea extractelor pe etanol de 20% ($5.92 \pm 0.72 \mu\text{M/gHb}$ sau +91.2%, $p=0.05$) și 50% ($11.46 \pm 3.27 \mu\text{M/gHb}$ sau +202.4%, $p=0.05$).

Conținutul total de glutation a crescut majoritar ca urmare a acțiunii rădăcinilor de TO. Cele mai înalte concentrații au fost determinate ca urmare a acțiunii extractelor pe etanol de 20% ($33.95 \pm 0.42 \mu\text{M/gHb}$ sau +96.8%, $p=0.05$) și 80% ($30.93 \pm 0.40 \mu\text{M/gHb}$ sau +62.1%, $p=0.05$) (tabelul A5.12).

Analiza statistică ne-a permis să concludem că, GSH a constituit majoritatea din cantitatea de glutation (figura 9). Astfel, după acțiunea extractului radicular pe DMSO cota procentuală a GSH a fost de 76.8%, după REtOH20 – 82.6%, REtOH50 – 53.8% și 66% în cazul REtOH80.

Spre deosebire de extractele foliare, în cazul rădăcinilor nu s-au determinat corelații statistic veridice dintre concentrația alcoolului etilic și cantitatea de glutation total ($r_s=-0.15$, $p=0.29$), GSH ($r_s=0.01$, $p=0.48$) și GSSG ($r_s=-0.19$, $p=0.25$).

La compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR am determinat, că conținutul total de glutation a fost mai mare ca urmare a acțiunii extractelor din frunze pe DMSO (tabelul A6.13). Părțile aeriene au înregistrat mai mult conținutul de GSSG ca rădăcinile, utilizând extractele pe etanol de 20%.

Rădăcinile s-au dovedit a fi mai efective în cazul conținutului total de glutation, utilizând extractele pe etanol de 20%. GSH a sporit ca urmare a acțiunii extractelor pe etanol de 20% și 80%.

Acțiunea extractelor din TO asupra homeostaziei tiol-disulfidice în funcție de compoziția extractelor. Conținutul de tioli liberi a atins cote minime ($3.02 \mu\text{M/gHb}$) la acțiunea extractului din frunze pe etanol de 80%, la următoarea componentă a compușilor activi: CTP – 11.52 mg/mL, AC – 0.18 mg/mL, ACh – 2.26 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 4.96 mg/mL, CTF – 6.52 mg/mL, Fts – 2.34 mg/mL (tabelul A8.15). Identică combinație a fost cauza conținutului minim de SH total ($3.15 \mu\text{M/gHb}$). Cel mai înalt conținut de SH liberi ($3.58 \mu\text{M/gHb}$) a fost înregistrat ca urmare a acțiunii compușilor din extractul radicular pe etanol de 20%: CTP – 2 mg/mL, AC – 0.55 mg/mL, ACh – 0.65 mg/mL, ACG – 0.1 mg/mL, Ahx – 1.68 mg/mL, CTF – 1.74 mg/mL, Fts – 0.59 mg/mL. Acest extract totodată a fost cauza rezultatelor maxime atinse de GSH ($28.03 \mu\text{M/gHb}$) și Glutation total ($33.95 \mu\text{M/gHb}$).

În cazul SH total, valorile minime au fost înregistrate după acțiunea extractului foliar pe etanol de 80% (tabelul A8.15). Valorile maxime ($3.79 \mu\text{M/gHb}$) au fost atinse grație extractului din frunze pe DMSO, la concentrația compușilor după cum urmează: CTP – 13.88 mg/mL, AC –

1.48 mg/mL, ACh – 8.16 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 11.4 mg/mL, CTF – 0.5 mg/mL, Fts – 0.38 mg/mL.

În cazul glutationului total și GSH, valorile maxime au fost atinse grație acțiunii extractului din rădăcini pe etanol de 20% (tabelul A8.15). Rezultate minime ca valoare a glutationului total au fost atinse după acțiunea extractelor din rădăcini pe DMSO (17.34 $\mu\text{M/gHb}$), la următoarea combinație a compușilor activi: CTP – 4.04 mg/mL, AC – 0.1 mg/mL, ACh – 0.76 mg/mL, ACG – 0.11 mg/mL, Ahx – 1.07 mg/mL, CTF – 0.6 mg/mL, Fts – 0.34 mg/mL. Aceeași combinație a cauzat valori minime în cazul GSSG (4.02 $\mu\text{M/gHb}$). Cele mai mici (10.88 $\mu\text{M/gHb}$) valori GSH a atins după acțiunea extractului din frunze pe etanol de 20%, cu următoarea combinație a compușilor chimici: CTP – 31.4 mg/mL, AC – 5.16 mg/mL, ACh – 23.8 mg/mL, ACG – 0.88 mg/mL, Ahx – 33.8 mg/mL, CTF – 4.61 mg/mL, Fts – 1.11 mg/mL.

În cazul GSSG, valorile minime au fost atinse la acțiunea extractului radicular pe DMSO. Cel mai înalt nivel (11.46 $\mu\text{M/gHb}$) de GSSG a fost rezultatul acțiunii extractului din rădăcini pe etanol de 50%, la următoarea combinație a compușilor chimici: CTP – 4.86 mg/mL, AC – 0.74 mg/mL, ACh – 5.34 mg/mL, ACG – 0.65 mg/mL, Ahx – 8 mg/mL, CTF – 0.96 mg/mL, Fts – 0.44 mg/mL.

4.3 Studiul comparativ al acțiunii extractelor din *Taraxacum officinale* asupra sistemului antioxidant enzimatic și homeostaziei tiol-disulfidice

Speciile reactive de oxigen endogene sunt produse de către celulă în rezultatul metabolismului normal [153]. Moleculele care conțin unul sau mai mulți electroni impari capabili de a genera compuși reactivi sunt denumiți drept radicali liberi. La moment sunt bine cunoscute 3 specii majore de SRO, a căror semnificație fiziologică este intens studiată: anionul superoxide (O_2^-), radicalul hydroxyl ($\bullet\text{OH}$) și peroxidul de hydrogen (H_2O_2). Ultimul reprezintă produsul advers al proceselor metabolice normale. De asemenea acesta poate fi produs de către un șir de oxidaze, precum xantin oxidaza, amino acid oxidaza, NAD(P)H oxidaza sau prin consumul oxigenului metabolic în peroxisomi. Printr-o succesiune de reacții (Haber–Weiss și Fenton), H_2O_2 poate scinda la OH^\bullet în prezența metalelor, precum Fe^{2+} sau Cu^{2+} . Acest produs ușor poate străbate membrana plasmatică. Este de menționat că, proprietățile redox ale peroxidului depind de pH: în medii acide acesta reprezintă un oxidant puternic, iar în bazice reduce multipli ioni anorganici. La moment, acesta este considerat unul din cei mai mediatizați agenți, prin care stresul oxidativ induce afectarea proteinelor, lipidelor și ADN-ului.

Celulele au dezvoltat o serie de mecanisme și agenți capabili de a proteja structurile menționate de către acțiunea dăunătoare a SRO. Un mecanism ține de SOD, care printr-o reacție

redox convertește superoxidul în oxigen și peroxid de hidrogen. H_2O_2 este descompus în apă și oxigen de către CAT, localizată în peroxisomi. Această enzimă reprezintă structural un tetramer, cu patru grupări heme ferice, care permit enzimei să reacționeze cu H_2O_2 . Altfel spus, CAT printr-o reacție de peroxidare elimină efectul nociv al H_2O_2 , rezultat în urma oxidării fenolilor, acidului formic, formaldehidei, alcoolilor etc. Este stabilit că pH-ul optim pentru activitatea CAT este egal cu 7. Glutathionul /GSH și enzimele asociate sunt cunoscute grație funcției sale de donator de electroni pentru H_2O_2 astfel invocând reducerea acestuia la H_2O și O_2 .

Park *et al.* (2007) au investigat efectul protectiv al extractului hidric din TO asupra hepatocitelor afectate prin administrarea tetraclorurii de carbon (CCl_4) șobolanilor Sprague-Dawley. Autorii au descris drept rezultat creșterea conținutului de SOD, GPx și GR într-o manieră dependentă de doză [88]. Totodată extractele din TO au diminuat conținutul de mRNA și citochrom P450 2E1. Există studii care susțin că, componenții bioactivi ai TO scad activitatea SOD, CAT și GPx în celulele hepatice afectate cu CCl_4 , diminuând depleția glutathionului [144]. O altă evidență despre impactul TO asupra sistemului antioxidant a fost prezentată de Sumanth și Rana (2006), care au dovedit că, administrarea *per os* (100 mg/kg) a extractelor din TO șobolanilor Wistar a diminuat peroxidarea lipidică, îmbunătățind semnificativ activitatea SOD, CAT și conținutul de GSH [63]. Conform datelor prezentate de Cho *et al.* (2003) utilizarea extractelor din frunze de TO a crescut semnificativ activitatea CAT, GPx și GST [154]. Aceste date parțial corelează cu rezultatele prezentate recent de noi (tabelul A1.8, 2.9). Diferența atestată ține de faptul că efectul TO poate fi modulatoriu, depinzând de partea plantei, tipul și concentrația extractantului.

Rezultate interesante au fost relativ recent prezentate de Jung *et al.* (2015), care au testat activitatea antioxidantă a extractelor hidrice din TO [155]. Autorii au constatat că, extractul combinat din frunze și rădăcini stimulează mult mai activ (2.2 mU/min/mg proteină) CAT decât extractele solitare. Totodată activitatea inhibitorie a peroxidării lipidice a extractului mixt a necesitat valori EC_{50} mai mici (426.6 μ g/mL) decât extractele separate din frunze și rădăcini. Proporția optimă dintre frunze și rădăcini, care a prezentat cele mai promițătoare rezultate a fost de 9:1.

În cazul studiului nostru am determinat că, TO poate exercita atât funcție stimulatorie, cât și inhibitorie asupra enzimelor sistemului antioxidant, efectul scontat dependent de tipul extractantului și concentrațiile compușilor chimici. Trebuie să menționăm că, concentrațiile înalte a compușilor studiați nu au corelat cu activitatea înaltă a enzimelor studiate. Mai mult, TO

a demonstrat că are acțiuni modulatorie. Drept exemplu, extractul din frunze pe DMSO a condus la diminuarea SOD, CAT și creșterea concomitentă a GPx, GST și GR [156].

Stresul oxidativ (SO) este un proces patologic declanșat prin dezechilibrul dintre producerea de radicali liberi ai oxigenului și azotului, și capacitatea unui sistem biologic de a neutraliza acești produși reactivi [157]. Mai mult decât atât, SO poate fi definit și ca dezechilibrul stării redox a unui sistem biologic (organite, celulă, țesut) cu producerea excesivă a speciilor reactive de oxigen/azot și/sau prin deficitul antioxidant endogen [158].

Radicalii liberi sunt molecule, care au electroni în orbitalul atomic și cel molecular. Acest electron ne-pereche este responsabil de reactivitatea acestor substanțe chimice, cât și de interacțiunea lor rapidă cu alți compuși [145,159]. 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 [145,160,161].

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 [162]. La nivel de celulă, antioxidanții pot controla nivelul radicalilor liberi formând un sistem antioxidant complex, care include un număr de enzime antioxidante (SOD, CAT, GPx, etc.) și compuși non-enzimatici (glutathionul, vitamina C, vitamina E, etc.) [163].

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 ale sistemului tampon redox tiol-disulfidic, ca chelatori metalici, ca agenți de stingere a radicalilor, ca substraturi pentru reacții specifice redox (GSH) și agenți reducători individuali specifici legăturilor disulfidice din proteine (tioredoxina) [164,165]. 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 a-i neutraliza.

Unul dintre mecanismele antioxidante esențiale a 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 abundantă moleculă tiolică cu masă moleculară mică este glutathionul. Împreună cu forma oxidată /GSSG, această pereche formează tamponul celular redox tiol-disulfidic [166]. În plus, trebuie de luat în considerare 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.

Studii anterioare au relatat capacitatea TO de a influența homeostazia sistemului tiol-disulfidică, datorită prezenței a diferiți metaboliți ai plantei, cum ar fi lactonele sesquiterpene, triterpenoidele, flavonoidele, acizii fenolici, cumarinele și steroizii [167].

În opinia lui Wirngo *et al.* (2016), proprietățile antiinflamatorii ale TO sunt mediate chimic de structura inelului aromatic care 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 ce 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 [21].

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 [168]. Chadwick *et al.* (2013) au determinat, că lactonele sesquiterpene nu exercită acțiune antioxidantă directă, care ar fi fost atribuită datorită structurii lor, ci prezenței componentelor adiționale atașate acestora, cum ar fi alcoolul alilic, care influențează activitatea [169]. Astfel, este cert că modularea compoziției TO prin diferite procedee poate condiționa amplificarea unor proprietăți asupra țintelor terapeutice. Drept exemplu, datele lui Jedrejek *et al.* (2019), unde două fracții îmbogățite cu lactone sesquiterpenice au exercitat acțiune protectoare în cazul oxidării lipidelor plasmatică 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 [170].

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 [171]. Mai mult, corelația statistică dintre diverși markeri ai SO din eritrocite sub influența extractelor etanolice de concentrații diferite a fost neomogenă. 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 putea fi prevenită prin

administrarea extractului etanolic (70%) din rădăcini de TO [172]. 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 [173]. Contrar acestor rezultate, datele noastre actuale indică faptul, că toate extractele etanolice și pe DMSO, atât din frunze, cât și din rădăcini diminuează nivelul de tioli. Diferența observată, poate fi datorată diferitor obiecte de studiu: serul utilizat în experimentul lui Pfingstgraf și eritrocitele în cazul nostru, cauză, care ar trebui cercetată suplimentar 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 sangvină, măsurate prin biomarkerii 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 [174]. Aceste rezultate consolidează noțiunea de rol benefic al TO, ca agent protector împotriva deteriorării oxidative a proteinelor. Astfel de date, corespund rezultatelor raportate anterior de Jedrejek *et al.* în 2017 [175]. 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). Autorii au decis, că petalele de TO sunt o sursă mai bogată în flavonoizi decât frunzele.

TO este bogat în compuși fenolici, caracterizați prin proprietăți antioxidante marcate. Această plantă conține polifenoli, flavonoizii β -sitosterol, kaempferolul 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 [176].

Potrivit lui Lis *et al.* (2020) componentele bioactive ale TO influențează conținutul de tioli în diferite moduri [37]. 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 μ g/mL) și prin administrarea de extract de flavonoizi (377 mg GAE/g), și fracția îmbogățită cu luteolină (880 mg GAE/g), a câte 50 μ g/mL

fiecare. In cazul tiolilor plasmatici autorii au subliniat importanța materialului biologic utilizat în experimentele cu TO [37].

În concluzie, putem afirma că TO manifestă acțiune antioxidantă, având drept țintă de acțiune enzimele acestui sistem, iar activitatea enzimelor este dependentă de tipul și concentrația extractantului, precum și de partea foliară sau radiculară a plantei. Odată cu creșterea concentrației etanolului în extractele foliare crește activitatea GR și GST, și invers scade GPx. În cazul extractelor din rădăcini, creșterea concentrației etanolului duce doar la inhibarea CAT, GR și GST. Frunzele de TO stimulează activitatea SOD, preponderent după aplicarea extractelor pe etanol de 20%, iar rădăcinile după extragere pe DMSO. Activitatea CAT este influențată de frunzele și rădăcinile de TO neuniform, mecanismul inhibitor manifestându-se în special după aplicarea extractelor pe DMSO. Mecanismul de acțiune a TO asupra GPx ține de stimularea activității la utilizarea extractelor din frunze pe DMSO sau a rădăcinilor pe etanol de 80%. Partea foliară a TO exercită doar efect stimulator asupra GST, în special la utilizarea extractelor pe etanol de 80%. Rădăcinile de TO influențează activitatea GST în funcție de solvent, exercitând efect stimulator la utilizarea extractelor pe DMSO. Frunzele de TO supuse extracției în etanol de concentrație înaltă stimulează activitatea GR, iar extractele pe alcool etilic de concentrație joasă, ca și toate extractele din rădăcini, o inhibă.

Totodată putem afirma că, TO manifestă atât activitate de oxidare, cât și de reducere. Componentele bioactive din frunze și rădăcini de TO diminuează conținutul de tioli liberi în majoritatea cazurilor. Influența TOF asupra conținutului de glutatation este una neomogenă. Creșterea sinergică de GSH și GSSG se determină doar sub influența extractului pe etanol de 80%. Diminuarea de GSH și creșterea conținutului de GSSG are loc sub acțiunea extractelor foliare pe DMSO și etanol de concentrații joase. Din conținutul total de glutatation, GSH constituie majoritatea. TOR posedă acțiune oxidantă și reducătoare. Creșterea conținutului total de glutatation datorată sporirii concomitente a cantității de GSH și GSSG se atestă la acțiunea extractelor pe etanol de 20% și 80%. GSSG crește ca urmare a utilizării extraselor radiculare pe etanol de 50%. Concentrația etanolului utilizat nu influențează cantitatea de glutatation la utilizarea rădăcinilor de TO.

5. POTENȚIALUL ANTIRADICALIC, ANTIOXIDANT TOTAL ȘI ACȚIUNEA EXTRACTELOR DIN *TARAXACUM OFFICINALE* ASUPRA MARKERILOR STRESULUI OXIDATIV

Speciile endogene, reactive de oxigen sunt generate în special, drept produse secundare din cadrul lanțului respirator mitocondrial [177]. Conținutul moderat de SRO are efecte benefice, precum distrugerea microorganismelor și regenerarea țesuturilor afectate. Creșterea însă dezechilibrează homeostazia redox, ceea ce conduce spre stresul oxidativ și distrugerea SRO-mediată a organitelor și biomoleculilor, precum ADN și proteine [158]. În adăție la SRO, speciile reactive de azot (SRN), precum oxidul nitric (NO), dioxidul de azot sau nitritul (NO_2^-), peroxinitritul sau nitratul (NO_3^-) de asemenea au o contribuție esențială în cadrul stresului oxidativ [145]. NO este produs de către nitric oxid sintazele (NOS), în procesul de catalizare a reacției de transformare a L-argininei la L-citrulină. Formarea de NO_3^- *in vivo* este atribuită reacției dintre radicalul liber superoxid (O_2^-) și NO. Ultimul interacționează cu SRO formând o serie de SRN implicați în deteriorări oxidative și nitrozative. De asemenea și NO_2^- este considerat un agent de oxidare și nitrare.

Oxidul nitric este implicat în multiple procese fiziologice, precum reglarea tensiunii arteriale, răspunsul imun și comunicarea neuronală [157]. NO este un radical liber biatomic, care are o durată de viață foarte scurtă în sistemele biologice. Cuantificarea metaboliților NO, nitriții și nitrații în probele biologice oferă informații valoroase cu privire la biodisponibilitatea, metabolismul și producția *in vivo* de NO.

Oxidantii, precum speciile reactive de oxigen și azot, pot genera radicali liberi, capabili de a deteriora diverși compuși chimici ai celulei, generând efecte inflamatorii, oncogene etc. Antioxidanții pot neutraliza acești radicali prin mecanisme enzimaticе și non-enzimaticе, astfel prevenind SO. Există un șir de substanțe, lipo- (vitamina A, tocoferolii) sau hidrosolubile (vitamina C, glutatiunul), componente ale plantelor, inclusiv TO, capabile de a exercita funcția antioxidantă, astfel prevenind sau neutralizând efectele SO. Măsurarea capacității antioxidante totale, masei substanțelor și activității medii a antioxidantilor a fost realizată cu scopul de a stabili care este acțiunea extractelor din TO asupra sistemului antioxidant non-enzimatic în cazul SO.

Radicalii liberi (RL) sunt implicați și în peroxidarea lipidelor [145]. Dialdehida malonică reprezintă unul din produșii finali ai peroxidării acizilor grași polinesaturați [160]. Creșterea de RL cauzează supraproducerea de DAM. Astfel, DAM este considerat drept unul din markerii stresului oxidativ.

5.1 Material și metode

În cadrul acestui studiu am utilizat extractele din frunze și rădăcini de TO, de concentrațiile: FDMSO – 110,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH20 – 140,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH50 – 150,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH80 – 40,000 $\mu\text{g/L}$, RDMSO – 145,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH20 – 95,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH50 – 60,000 $\mu\text{g/L}$ și REtOH80 – 50,000 $\mu\text{g/L}$. În calitate de substanțe de referință am utilizat Troloxul și Rutina. Activitatea de reducere a probelor de studiu a fost evaluată imediat (0 minute), și după 15 și 30 minute de incubare.

Determinarea activității antiradicalice a extractelor obținute din *Taraxacum officinale*, a fost efectuată prin utilizarea radicalului cation $\text{ABTS}^{\cdot+}$ după Roberta Re *et al.* [178]. Metoda în cauză implică utilizarea de ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolină-6- acidului sulfonic). În baza acestui eseu este posibil de determinat activitatea antiradicalică atât a substanțelor pure, cât și a complexelor antioxidante. Radicalul cation $\text{ABTS}^{\cdot+}$ este generat prin oxidarea ABTS-ului, iar reducerea lui are loc prin mecanismul de adiționare de electroni. Oxidarea ABTS-ului în scopul formării radicalului cation $\text{ABTS}^{\cdot+}$ a fost efectuată cu persulfat de potasiu ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). În calitate de echivalent pentru calculul cantitativ în această metodă au fost utilizați Troloxul (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxilic), compus cu activitate antiradicalică similară tocoferolului, dar care fiind lipsit de lanțul fitil este hidrosolubil și Rutina (2-(3, 4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-3- [α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6) - β -D-glucopiranoziloxi]-4H-cromen-4-onă) (figura 10).

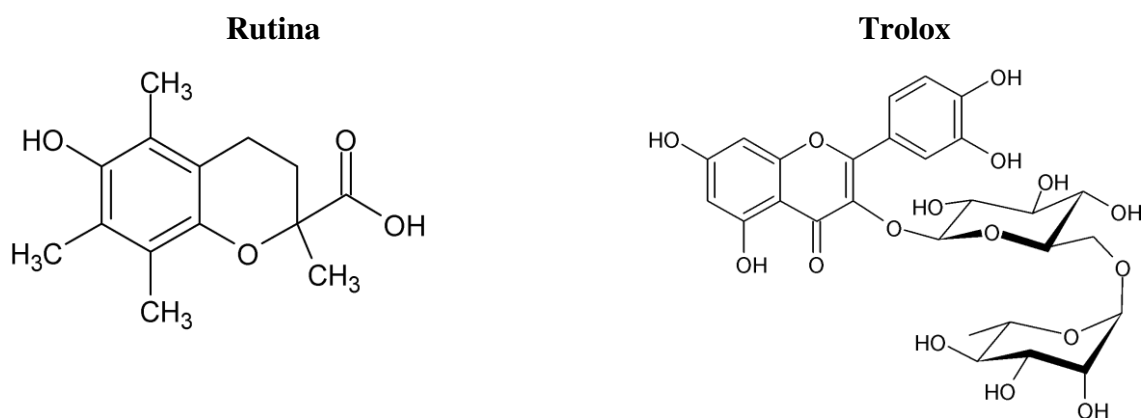


Figura 10. Structura chimică a compușilor de referință, Rutina și Troloxul.

Soluția standard stoc Trolox 2 mM a fost preparată prin dizolvarea a 5 mg de Trolox în 10 mL de etanol 96%. Soluția standard stoc Rutină 2 mM a fost preparată prin dizolvarea a 5 mg de Rutină în 10 mL de etanol 96%. Ulterior s-au pregătit 8 diluții de lucru, cu următoarele

concentrații de Trolox și Rutină ($\mu\text{g/L}$): 3×10^6 ; 15×10^5 ; 750×10^3 ; 375×10^3 ; 187,500; 93,750; 46,880; 23,440.

Experimentele au fost repetate de 3 ori. În calitate de control a servit soluția de lucru de $\text{ABTS}^{\cdot+}$ (ABTS + persulfat de potasiu), fără antioxidanți. În calitate de Blank a servit solvenul (etanol) fără $\text{ABTS}^{\cdot+}$. Inhibiția (%) radicalului cation $\text{ABTS}^{\cdot+}$ a fost calculată după formula 2:

Formula

$$I (\%) = \frac{\text{Abs } 734 \text{ nm}_0 - \text{Abs } 734 \text{ nm}_1}{\text{Abs } 734 \text{ nm}_0} \times 100 \quad (2)$$

unde,

Abs 734 nm₀ reprezintă absorbanta soluției de control;

Abs 734 nm₁ – valoarea absorbantei extractului testat după incubare (respectiv A₀ (imediat), 15 min, 30 min).

Calculul valorilor IC₅₀ și expresiile grafice au fost efectuate cu ajutorul *soft*-ului GraphPad.

Determinarea capacității antioxidante totale (TAC) și masei substanțelor antioxidante (MSA) per unitate de masă în probele de cercetat s-a efectuat în baza metodei descrise de Meijuan Zhang et al. (2014), în modificarea propusă de Tagadiuc et al. (2018) [179,180]. Esența metodei constă în faptul că, la realizarea procedurii redox cu permanganat de potasiu, antioxidanții prezenți în proba de cercetat suprimă formarea colorației într-un grad proporțional cu concentrațiile acestora.

Calcularea capacității antioxidante totale a probei de cercetat (TAC) am efectuat-o după formula 3:

Formula

$$\text{TAC} = 100 / [\text{Abs1} + 2 \times (\text{Abs2} + \text{Abs3} + \text{Abs4}) + \text{Abs5}] \quad (3)$$

unde:

TAC – reprezintă capacitatea antioxidantă totală a probei de cercetat.

Abs1, Abs2, Abs3, Abs4, Abs5 – reprezintă absorbanta diluțiilor de lucru ale probelor de cercetat: Abs1 (1: 10); Abs2 (1: 20); Abs3 (1: 40); Abs4 (1: 80) și Abs5 (1: 160).

Calculul masei substanțelor antioxidante în proba de cercetat (MSA) a fost efectuat după formula 4:

Formula

$$\text{MSA} = 0.3 \times (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{minimă}}) / (\text{Abs}_{\text{maximă}} - \text{Abs}_{\text{minimă}}) + \lg T_{\text{minim}} (\text{u/c}) \quad (4)$$

unde:

MSA – reprezintă masa substanțelor antioxidante din proba de cercetat;

Abs_{control} – reprezintă valoarea Abs probei de control;

Abs_{maximă} și Abs_{minimă} – reprezintă valorile mai mari (Abs_{maximă}) și mai mici (Abs_{minimă}), din afara intervalului de salt;

lgT_{minim} – reprezintă cel mai mic logaritm al diluției de lângă intervalul de salt.

Intervalul de salt a fost calculat în felul următor: au fost aranjate valorile absorbanței probelor (valorile Abs) în ordinea crescătoare – de la cea mai mică, la cea mai mare valoare. Apoi s-au scăzut valorile Abs ale concentrațiilor adiacente, iar cea mai mare valoare absolută a diferenței a fost definită ca intervalul de salt. Factorii de diluție serică (1:10; 1:20; 1:40; 1:80 și 1:160) au fost transformați într-o scară logaritmică (1.0, 1.30, 1.6, 1.9 și 2.2).

Calculul activității medii a antioxidanților din proba de cercetat (AMA) a fost efectuat după formula 5:

Formula

$$A = \frac{TAC}{MSA} \quad (5)$$

unde:

A – reprezintă activitatea medie a substanțelor antioxidante din proba de cercetat;

TAC – este capacitatea antioxidantă totală;

MSA – reprezintă masa substanțelor antioxidante din proba de cercetat.

Pentru probele diluate la concentrații de 1: 10, 1: 20, 1: 40, 1: 80 și 1: 160, valorile Abs au fost: 0.095, 0.496, 1.176, 1.682 și respectiv, 1.986, iar valoarea Abs a probei de control – 2.07. Drept exemplu, masa substanțelor antioxidante (MSA) a fost calculată pentru intervalul de salt 1:40-1:80 după formula 6.

Formula

$$MSA = 0,3 \times (2.07-0.496) / (1.176-0.496) + \lg 20 = 1.99 \text{ u/c} \quad (6)$$

Markerii stresului oxidativ au fost evaluați *in vitro* utilizând eritrocite, recoltate de la persoane sănătoase (capitolul 2.3.2, pag.41).

Dozarea metaboliților oxidului nitric în probele de cercetat a fost efectuată după deproteinizarea acestora conform procedurii descris de Метельская *et al.* (2005), în modificarea lui Gudumac *et al.* [152,181,182]. Micrometoda propusă are la bază determinarea

spectrofotometrică a complexului colorat format în rezultatul interacțiunii nitriților din proba de cercetat cu reagentul Griess.

Calculul a fost efectuat conform curbei de etalonare, construită în baza diluțiilor succesive ale soluției standard stoc de nitrit de sodiu și exprimată în $\mu\text{M/gHb}$.

Pentru determinarea activității eNOS, inițial s-a pregătit lizatul eritrocitar ce conține eNOS (*endothelial nitric oxide synthase*) [183]. Cu reactivul Griess s-a determinat cantitatea metabolitului oxidului nitric, nitritului. Cantitatea acestuia a servit drept măsură a activității enzimaticice.

Calculul a fost efectuat după curba de calibrare construită în baza diluțiilor stoc de nitrit de sodiu de 10 mM, exprimată în $\mu\text{M/L}$ ser sangvin.

Aprecierea intensității reacțiilor de oxidare cu radicali liberi în probele de cercetat a fost efectuată prin dozarea produsului final al peroxidării lipidelor (DAM) în conformitate cu procedeul descris de Галактионова *et al.* (1998), în modificarea propusă de Gudumac *et al.* (2012) [184].

Metoda are la bază determinarea spectrofotometrică a complexului trimetic format în rezultatul interacțiunii DAM cu acidul tiobarbituric (ATB). Produsul final al peroxidării lipidelor, DAM, a format cu ATB un complex trimetic colorat, intensitatea căreia a fost direct proporțională cu concentrația DAM în proba cercetată.

Conținutul de DAM a fost calculată în baza coeficientului molar de absorbție $\Sigma=1,56 \cdot 10^5 \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-1}$ și exprimat în $\mu\text{M/gHb}$.

5.2 Rezultatele evaluării acțiunii *Taraxacum officinale* asupra potențialului antiradicalic, antioxidant total și markerilor stresului oxidativ

Capacitatea antiradicalică a Troloxului și Rutinei. Troloxul este binecunoscut pentru activitatea sa antioxidantă. Procesul de neutralizare a ABTS a manifestat o fluctuație valorică în dependență de concentrația Troloxului și timpul de incubare. Astfel la măsurare imediată s-a stabilit că, neutralizarea cea mai pronunțată a ABTS (91.86%, DS – 3.56, 95% ÎÎ: 84.88-98.84) a fost realizată la concentrația de $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (tabelul A9.16). Concentrația inhibitoare medie, IC_{50} pentru acest interval de timp a fost echivalentă cu 267,900 $\mu\text{g/L}$.

Creșterea timpului de incubare la 15 minute a probelor la prima vedere nu a schimbat activitatea antiradicalică a Troloxului, rămânând cea mai evidentă la concentrația de $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (95.08%, DS – 0.82, 95% ÎÎ: 93.47-96.69). Însă, concentrația inhibitoare IC_{50} s-a diminuat la valoarea de 224,000 $\mu\text{g/L}$.

Procesul de neutralizare a ABTS la concentrația de $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ a fost cel mai activ și după 30 minute (95.36%, DS – 0.94, 95% Î: 93.52-97.20), însă valoarea IC_{50} a înregistrat o descreștere semnificativă (158,700 $\mu\text{g/L}$).

Testele statistice au relevat că, creșterea timpului de incubare sporește și procesul de neutralizare a ABTS ($r_s=0.20$, $p=0.05$). Trebuie de menționat că, creșterea concentrației Troloxului a sporit statistic veridic neutralizarea radicalului ABTS ($r_s=0.88$, $p=0.001$). Totuși, la efectuarea U-testului, am determinat că capacitatea de reducere a Troloxului nu se schimbă statistic esențial după concentrația de $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$, atât la compararea cu concentrația de $1,500 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (0 minute – $p=0.51$, 15 minute – $p=0.51$, 30 minute – $p=0.23$), cât și cea de $3,000 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (0 minute – $p=0.51$, 15 minute – $p=0.66$, 30 minute – $p=0.13$)

Procesul de inhibiție a ABTS sub influența Rutinei, la măsurare imediată a sporit odată cu creșterea concentrației, înregistrând cele mai mari valori la $3,000 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (90.64%, DS – 2.05, 95% Î: 86.62-94.66) (tabelul A9.16). Valoarea lui IC_{50} în această perioadă de timp a fost echivalentă cu 468,300 $\mu\text{g/L}$.

La creșterea timpului de incubare la 15 minute, cea mai pronunțată activitate antiradicalică s-a determinat la concentrația Rutinei de $1,500 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (93.3%, DS – 0.35, 95% Î: 92.61-93.99). Concentrația inhibitoare IC_{50} în această perioadă de timp a fost echivalentă cu 158,000 $\mu\text{g/L}$.

După 30 minute de incubare cea mai intensă reducere a radicalului ABTS a fost stabilită la concentrația $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ (94.15%, DS – 0.14, 95% Î: 93.88-94.42). Diminuarea concentrației s-a determinat și în cazul IC_{50} , stabilind valori egale cu 125,900 $\mu\text{g/L}$.

Procesul de neutralizare a ABTS sub influența Rutinei, analogic cu Troloxul a fost direct, puternic dependent de concentrația substanței active ($r_s=0.85$, $p=0.0001$) și timpul de incubare ($r_s=0.34$, $p=0.001$).

Testul de comparare la 0 minute a permis stabilirea diferențelor statistic veridice ($p=0.05$) dintre activitatea antiradicalică a Rutinei de concentrații $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ și mai mari. Valorile obținute în cazul concentrațiilor $1,500 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ și $3000 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ nu s-au deosebit statistic veridic ($p=0.13$).

La compararea celor mai reprezentative valori obținute după 15 și 30 minute de incubare, am determinat că activitatea antiradicalică nu sporește odată cu creșterea concentrației peste $750 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ ($p>0.05$).

Capacitatea antiradicalică a extractelor TO pe DMSO. În cazul extractului foliar procesul de inhibiție a ABTS la măsurare imediată a decurs cel mai intens la concentrația TO echivalentă cu 3,438 $\mu\text{g/L}$ (86.8%, DS – 1.35, 95% Î: 84.15-89.45), urmată în descreștere cu $85 \pm 2.56\%$ la

6,875 µg/L (tabelul A10.17). Însă la comparare aceste valori nu s-au deosebit statistic esențial ($p=0.28$). Valoarea lui IC_{50} a constituit 1,636 µg/L.

După incubare timp de 15 minute aceleași concentrații, de 3,438 µg/L ($89.7\pm 1.56\%$) și 6,875 µg/L (83.9% , DS – 3.81, 95% Î: 76.43-91.37) au rămas cele mai active, iar valorile au fost statistic diferite. Concentrația medie inhibitoare a constituit 1,073 µg/L .

Valorile activității antiradicalice măsurate la 30 minute au menținut în calitate de lider ($p=0.05$) concentrația de 3,438 µg/L (88.1% , DS – 2.16, 95% Î: 83.87-92.33), urmată de extractele de 6,875 µg/L (82.1% , DS – 3.31, 95% Î: 75.61-88.59) și 1,719 µg/L (81.7% , DS – 4.98, 95% Î: 71.94-91.46), similare statistic în acțiunea lor antiradicalică ($p=0.83$). Concentrația IC_{50} a diminuat la 919.6 µg/L .

Eseurile corelaționale nu au depistat valori statistic veridice dintre activitatea antiradicalică și concentrația extractului ($r_s=0.06$, $p=0.31$) sau timpul de incubare ($r_s=0.11$, $p=0.20$).

În cazul extractului radicular, la imediata măsurare, procesul de neutralizare a ABTS a decurs mai intens în cazul concentrațiilor 36,250 µg/L (66.87% , DS – 7.67, 95% Î: 51.84-81.90) și 72,500 µg/L (64.2% , DS – 3.42, 95% Î: 57.5-70.9) (tabelul A10.17). Cea mai slab pronunțată activitate s-a atestat la 1,133 µg/L (4.64% , DS – 2.86, 95% Î: 1-10.25). Valoarea lui IC_{50} a constituit 11,029 µg/L .

După 15 minute de incubare, am constatat că probele cu concentrații înalte de TO au exercitat activități antiradicalice promițătoare: 18,125 µg/L (82.07% , DS – 0.86, 95% Î: 80.38-83.76), 36,250 µg/L (91.9% , DS – 0.77, 95% Î: 90.39-93.41) și 72,500 µg/L (91.94% , DS – 1.25, 95% Î: 89.49-94.39), iar cea mai joasă activitate a fost depistată la 1,133 µg/L (1.47% , DS – 0.46, 95% Î: 0.57-2.37). Concentrația medie inhibitoare s-a diminuat aproape dublu, 6,916 µg/L .

La finele experimentului, după 30 minute liderii activității de reducere a ABTS au rămas probele cu concentrații înalte: 18,125 µg/L (90.45% , DS – 1.82, 95% Î: 86.88-94.02), 36,250 µg/L (91.61% , DS – 0.16, 95% Î: 91.3-91.92) și 72,500 µg/L (91.8% , DS – 2.19, 95% Î: 87.51-96.09). Concentrația de 1,133 µg/L a prezentat activitatea antiradicalică joasă (1.8% , DS – 0.36, 95% Î: 1.09-2.51). Concentrația IC_{50} a echivalat cu 5671 µg/L .

Concentrația TO în DMSO s-a dovedit a fi importantă, influențând direct proporțional procesul de inhibiție a ABTS ($r_s=0.91$, $p=0.001$). De asemenea și timpul de incubare a sporit activitatea antiradicalică ($r_s=0.26$, $p=0.02$).

Acțiunea antiradicalică a extractelor etanolicе din TO. FEtOH20. Procesul de neutralizare a ABTS la imediata măsurare a decurs cel mai intens în godeurile cu concentrații de 4,375 µg/L (89.54% , DS – 2.59, 95% Î: 84.46-94.62), 8,750 µg/L (89.78% , DS – 1.81, 95% Î:

86.23-93.33), 17,500 $\mu\text{g/L}$ (90.48%, DS – 1.01, 95% Î: 88.50-92.46) și 35,000 $\mu\text{g/L}$ (88.84%, DS – 2.7, 95% Î: 83.55-94.13) (tabelul A10.17). Aceste valori s-au dovedit statistic similare ($p=0.28$). Concentrația medie inhibitoare în acest interval de timp a fost egală cu 1,516 $\mu\text{g/L}$.

La măsurare repetată, după 15 minute toate concentrațiile au prezentat activitate antiradicalică înaltă, statistic similară ($p=0.28$), cu excepția valorilor înregistrate la 1,094 $\mu\text{g/L}$ (47.64%, DS – 17.53, 95% Î: 13.28-82). Valoarea lui IC_{50} a constituit 1,065 $\mu\text{g/L}$.

Activitatea antiradicalică a extractelor etanolice nu s-a modificat esențial comparativ cu rezultatele înregistrate la 15 minute, atribuind concentrației 1,094 $\mu\text{g/L}$ (58.87%, DS – 18.95, 95% Î: 21.73-96.01) cea mai joasă activitate ($p=0.05$). Concentrația IC_{50} a diminuat la 881.1 $\mu\text{g/L}$.

Importanța concentrației extractului a fost subsemnată de corelația statistic pozitivă cu activitatea antiradicalică ($r_s=0.29$, $p=0.01$). Timpul de incubare a probelor nu a influențat această activitate ($r_s=-0.08$, $p=0.25$).

FEtOH50. Cea mai promițătoare activitatea antiradicalică la imediata măsurare a fost stabilită în cazul concentrației extractului de 4,688 $\mu\text{g/L}$ ($87.09 \pm 2.32\%$) și 2,344 $\mu\text{g/L}$ (86.41%, DS – 1.67, 95% Î: 82.54-91.64) (tabelul A10.17). Cea mai vagă reducere a ABTS-ului s-a stabilit în cazul concentrației de 1,172 $\mu\text{g/L}$ (63.48%, DS – 15.48, 95% Î: 33.14-93.82). Concentrația medie inhibitoare a constituit 971.2 $\mu\text{g/L}$.

După 15 minute, lideri ai procesului de neutralizare a ABTS au rămas extractele cu concentrația de 4,688 $\mu\text{g/L}$ (71.96%, DS – 7.13, 95% Î: 57.99-85.93) și 2,344 $\mu\text{g/L}$ (68.71%, DS – 8.14, 95% Î: 52.76-84.66). Cea mai joasă activitate antiradicalică s-a atestat în cazul extractelor de cea mai mare concentrație, 37,500 $\mu\text{g/L}$ (49.04%, DS – 13.4, 95% Î: 22.78-75.30) și 75,000 $\mu\text{g/L}$ (34.15%, DS – 17.75, 95% Î: -0.64-68.94). Valoarea lui IC_{50} a diminuat drastic (64.48 $\mu\text{g/L}$), comparativ cu cea înregistrată anterior.

În cazul probelor incubate 30 minute, cea mai importantă activitate de reducere a radicalului ABTS s-a determinat în cazul extractelor cu concentrația de 18,750 $\mu\text{g/L}$ (44%, DS – 5.3, 95% Î: 33.61-54.39) și 4,688 $\mu\text{g/L}$ (39%, DS – 26.14, 95% Î: -12.23-90.23), cu valoarea $\text{IC}_{50}=4,434$ $\mu\text{g/L}$. Extractele cu cea mai înaltă concentrație au prezentat cele mai slabe capacități antioxidante.

Efectuarea eseurilor de corelație nu a pus în evidență dependența activității antiradicalice de concentrația extractului ($r_s=-0.19$, $p=0.07$). Activitatea antiradicalică față de ABTS însă a fost influențată de timpul de incubare, determinând prezența unor asocieri negative, statistic semnificative ($r_s=-0.83$, $p=0.0001$).

FEtOH80. Extractul foliar supus extragerii în etanol de 80% și-a manifestat cel mai intens activitatea antiradicalică la imediata măsurare, la concentrația de 5,000 $\mu\text{g/L}$ (73.48%, DS – 10.24, 95% Î: 53.41-93.55) și 2,500 $\mu\text{g/L}$ (68.08%, DS – 1.88, 95% Î: 64.40-71.76) (tabelul A10.17). Extractele cu cea mică concentrație au redus cel mai vag radicalul ABTS (7.59%, DS – 1.63, 95% Î: 4.40-10.78). Valoarea concentrației medii inhibitoare a constituit 948.9 $\mu\text{g/L}$.

După 15 minute de incubare lider după activitatea de reducere au devenit extractele cu concentrația de 1,250 $\mu\text{g/L}$ (83.67%, DS – 4.24, 95% Î: 75.36-91.98), urmate de 2,500 $\mu\text{g/L}$ (75.4%, DS – 5.43, 95% Î: 64.76-86.04) și 5,000 $\mu\text{g/L}$ (70.61%, DS – 9.11, 95% Î: 52.75-88.47). Extractele cu concentrația de 312.5 $\mu\text{g/L}$ au inhibat radicalul ABTS cel mai slab (14.81%, DS – 3.34, 95% Î: 8.26-21.36). Concentrația IC_{50} a diminuat practic triplu, la 324.3 $\mu\text{g/L}$.

Creșterea timpului de incubare nu a schimbat poziția extractelor după activitatea de reducere, comparativ cu rezultatele înregistrate la 15 minute. Valoarea lui IC_{50} a diminuat la 272.4 $\mu\text{g/L}$.

Eseurile de corelație nu au depistat asocieri statistic semnificative dintre concentrația extractelor și activitatea de reducere. Totuși, această activitate s-a dovedit a fi direct influențată de timpul de incubare ($r_s=0.25$, $p=0.02$).

REtOH20. În cazul extractului radicular, la imediata examinare am determinat că odată cu creșterea concentrației TO, crește și activitatea de reducere (tabelul A10.17). Cele mai active s-au dovedit a fi probele cu concentrațiile 23,750 $\mu\text{g/L}$ (75.74%, DS – 4.05, 95% Î: 67.8-83.68) și 47,500 $\mu\text{g/L}$ (89.77%, DS – 2.57, 95% Î: 84.73-94.81). Procesul de inhibiție a ABTS a decurs mai lent în cazul concentrației minore de 742 $\mu\text{g/L}$ (1.89%, DS – 0.26, 95% Î: 1.38-2.4). Concentrația IC_{50} a fost egală cu 9,960 $\mu\text{g/L}$.

După 15 minute de incubare, probele cu concentrații înalte de TO au rămas lideri în activitatea antiradicalică: 23,750 $\mu\text{g/L}$ (88.48%, DS – 2.99, 95% Î: 82.62-94.34) și 47,500 $\mu\text{g/L}$ (85.84%, DS – 4.21, 95% Î: 77.59-94.09). Însă cea mai joasă influență asupra procesului de inhibiție a ABTS s-a atestat la 2,969 $\mu\text{g/L}$ (2.13%, DS – 0.67, 95% Î: 0.82-3.44). Valoarea IC_{50} a diminuat la 6,853 $\mu\text{g/L}$.

După 30 minute de incubare probele cu concentrații înalte de TO au rămas cele mai active în reducerea radicalului ABTS: 11,875 $\mu\text{g/L}$ (86.38%, DS – 7.44, 95% Î: 71.80-101), 23,750 $\mu\text{g/L}$ (87.74%, DS – 5.09, 95% Î: 77.76-97.72) și 47,500 $\mu\text{g/L}$ (85.93%, DS – 6.82, 95% Î: 72.56-99.3). Compararea acestor rezultate nu a depistat diferențe statistic veridice ($p>0.05$). Concentrația medie inhibitoare a constituit 4,842 $\mu\text{g/L}$.

Procesul de inhibiție a ABTS a fost în directă corelare cu concentrația probelor ($r_s=0.88$, $p=0.001$). Această activitate nu a fost influențată de perioada de incubare ($r_s=0.19$, $p=0.07$).

REtOH50. La imediata măsurare, extractele de concentrație înaltă au redus radicalul ABTS cel mai efectiv: 15,000 $\mu\text{g/L}$ (91.81%, DS – 1.01, 95% Î: 89.83-93.79) și 30,000 $\mu\text{g/L}$ (91.04%, DS – 2.1, 95% Î: 86.92-95.16) (tabelul A10.17). Probele cu concentrație mică a TO s-au dovedit a fi mai puțin efective: 469 $\mu\text{g/L}$ (3.13%, DS – 0.79, 95% Î: 1.58-4.68) și 938 $\mu\text{g/L}$ (4.68%, DS – 0.38, 95% Î: 3.94-5.42). Valoarea IC_{50} în această perioadă de timp a echivalat cu 4,171 $\mu\text{g/L}$.

După 15 minute, 3 probe au redus semnificativ ABTS-ul: 7,500 $\mu\text{g/L}$ (93.51%, DS – 1.03, 95% Î: 91.49-95.53), 15,000 $\mu\text{g/L}$ (92.01%, DS – 0.77, 95% Î: 90.5-93.52) și 30,000 $\mu\text{g/L}$ (91.93%, DS – 1.11, 95% Î: 89.75-94.11). Diferențele statistice dintre aceste rezultate nu au atins pragul scontat ($p>0.05$). Probele cu concentrație joasă a TO au fost mai puțin efective.

În cazul probelor măsurate după 30 min s-a păstrat aceeași legitate: odată cu creșterea concentrației extractului a crescut și capacitatea antiradicalică. Această afirmație este susținută de valorile statistic semnificative ale corelației concentrației vs procesul de inhibiție a ABTS-ului ($r_s=0.90$, $p=0.001$). Timpul de incubare însă nu a influențat acest proces ($r_s=0.17$, $p=0.10$).

REtOH80. În cazul etanolului de 80%, la imediata măsurare, cel mai activ s-a dovedit a fi extractul de concentrația 6,250 $\mu\text{g/L}$ (74.51%, DS – 3.05, 95% Î: 68.53-80.49), urmat de 12,500 $\mu\text{g/L}$ (62.83%, DS – 4.43, 95% Î: 54.15-71.51) (tabelul A10.17). Diluția cu cea mai joasă concentrație a TO, 391 $\mu\text{g/L}$ a fost cea mai puțin eficientă (6.35%, DS – 2.2, 95% Î: 2.04-10.66). Concentrația medie inhibitoare a constituit 1,789 $\mu\text{g/L}$.

După 15 minute, inhibiția radicalului ABTS mai efectivă a fost înregistrată în cazul extractelor cu concentrațiile 3,125 $\mu\text{g/L}$ (83.01%, DS – 2.04, 95% Î: 79.01-87.01), 6,250 $\mu\text{g/L}$ (76.19%, DS – 3.42, 95% Î: 69.49-82.89) și 12,500 $\mu\text{g/L}$ (51.84%, DS – 6.53, 95% Î: 39.04-64.64). Valoarea IC_{50} pentru această perioadă de timp a fost egală cu 770.2 $\mu\text{g/L}$.

După 30 minute, lideri în procesul de inhibare a ABTS-ului au fost extractele cu concentrația TO de 3,125 $\mu\text{g/L}$ (83.01%, DS – 2.04, 95% Î: 79.01-87.01), 1,563 $\mu\text{g/L}$ (80.82%, DS – 3.07, 95% Î: 74.8-86.84) și 6,250 $\mu\text{g/L}$ (76.19%, DS – 3.42, 95% Î: 69.49-82.89). Concentrația IC_{50} a constituit 692.2 $\mu\text{g/L}$.

Compararea extractelor analizate. La imediata măsurare, cele mai active probe au fost: Trolox 15×10^5 $\mu\text{g/L}$ (92.45%, DS – 0.39, 95% Î: 91.69-93.21), Trolox 75×10^4 $\mu\text{g/L}$ (91.93%, DS – 3.56, 95% Î: 84.95-98.91), REtOH50 15,000 $\mu\text{g/L}$ (91.81%, DS – 1.01, 95% Î: 89.83-93.79), Trolox 3×10^6 $\mu\text{g/L}$ (91.57%, DS – 3.43, 95% Î: 84.85-98.29), REtOH50 30,000 $\mu\text{g/L}$ (91.04%, DS – 2.1, 95% Î: 86.92-95.16) și Rutina 3×10^6 $\mu\text{g/L}$ (90.64%, DS – 2.05, 95% Î: 84.85-98.29).

86.62-94.66). Primele 10 probe, cele mai active în reducerea radicalului ABTS sunt redată în figura 11. Cele mai puțin eficiente au fost REtOH20 de 742 $\mu\text{g/L}$ (1.89%, DS – 0.26, 95% ÎÎ: 1.38-2.4) și Rutina 46.88 $\times 10^3 \mu\text{g/L}$ (1.78%, DS – 0.25, 95% ÎÎ: 1.29-2.27).

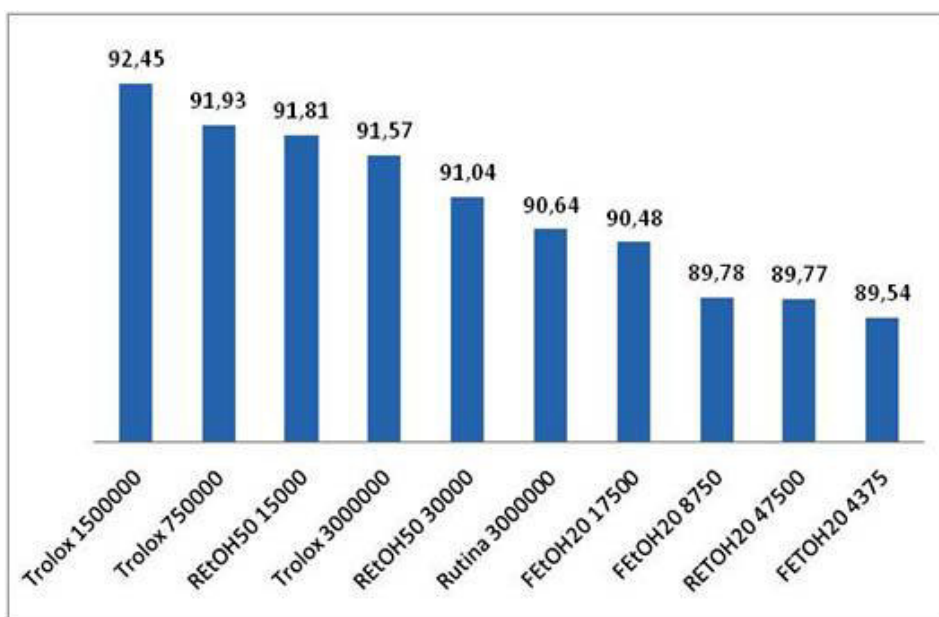


Figura 11. **Testul reducerii radicalului ABTS (%) la imediata măsurare – cele mai efective 10 probe.**

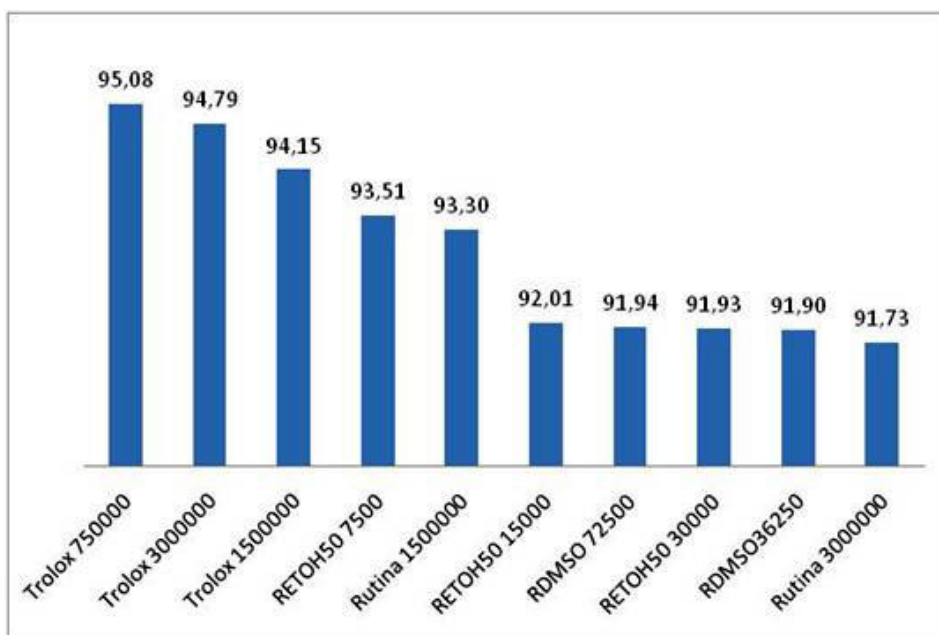


Figura 12. **Testul reducerii radicalului ABTS (%) după 15 minute de incubare.**

După 30 minute de incubare, printre lideri în reducerea radicalului ABTS de rând cu Trolox și Rutina au fost extractele radiculare REtOH50 7,500 $\mu\text{g/L}$ (93.81%, DS – 1.18, 95% ÎÎ:

91.5-96.12), REtOH50 15,000 $\mu\text{g/L}$ (91.47%, DS – 1.77, 95% Î: 88-94.94), RDMSO 72,500 $\mu\text{g/L}$ (91.8%, DS – 2.19, 95% Î: 87.51-96.09), REtOH50 30,000 $\mu\text{g/L}$ (91.98%, DS – 1.86, 95% Î: 88.33-95.63) și RDMSO 36,250 $\mu\text{g/L}$ (91.61%, DS – 0.16, 95% Î: 91.30-91.92) (figura 13).

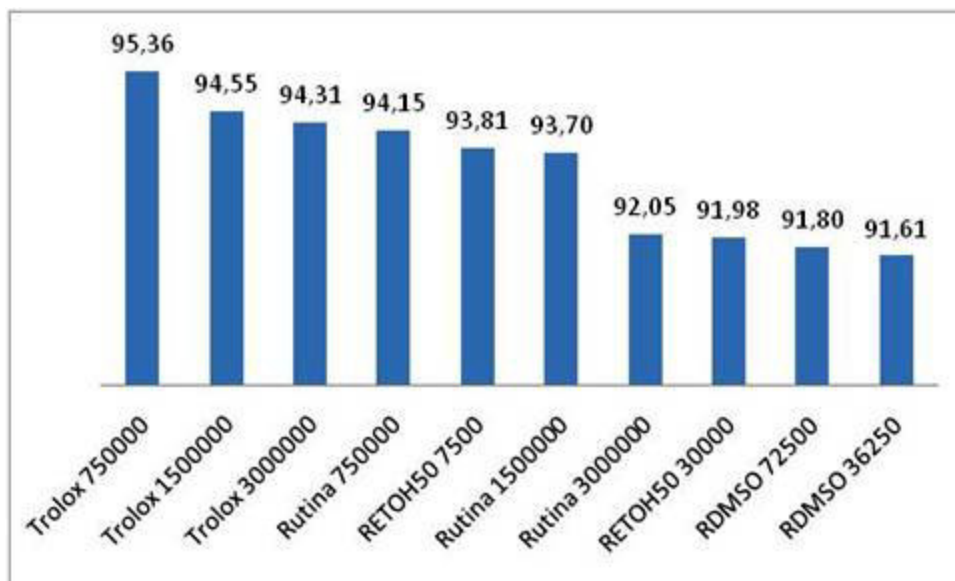


Figura 13. **Testul reducerii radicalului ABTS (%) după 30 minute de incubare – cele mai active probe.**

La analiza comparativă, *per total* cele mai efective extracte din TO, capabile să concureze cu substanțe de referință, au fost REtOH50 la 30 minute și 7,500 $\mu\text{g/L}$ (93.81%, DS – 1.18, 95% Î: 91.5-96.12), precum și REtOH50 15 minute 7,500 $\mu\text{g/L}$ (93.51%, DS – 1.03, 95% Î: 91.49-95.53) (figura 14).

Cele mai puțin efective, de rând cu Troloxul și Rutina au fost extractele radiculare pe DMSO, etanol de 20% și 50%, la diverse intervale de timp de incubare (figura 15).

Importanța concentrației etanolului în procesul de inhibiție a ABTS a fost evaluată prin procedeul de corelare statistică. Astfel, în cazul extractelor foliare, odată cu creșterea concentrației etanolului s-a atestat diminuarea capacității de reducere a radicalului ABTS, atât la imediata măsurare ($r_s = -0.60$, $p = 0.0001$), cât și după 15 ($r_s = -0.57$, $p = 0.001$) și 30 ($r_s = -0.36$, $p = 0.001$) minute de incubare a probelor. Însă, în cazul extractelor radiculare nu s-au depistat asocieri statistic semnificative, atât la imediata măsurare ($r_s = 0.12$, $p = 0.18$), cât și după 15 ($r_s = 0.09$, $p = 0.25$) și 30 minute ($r_s = 0.02$, $p = 0.44$).

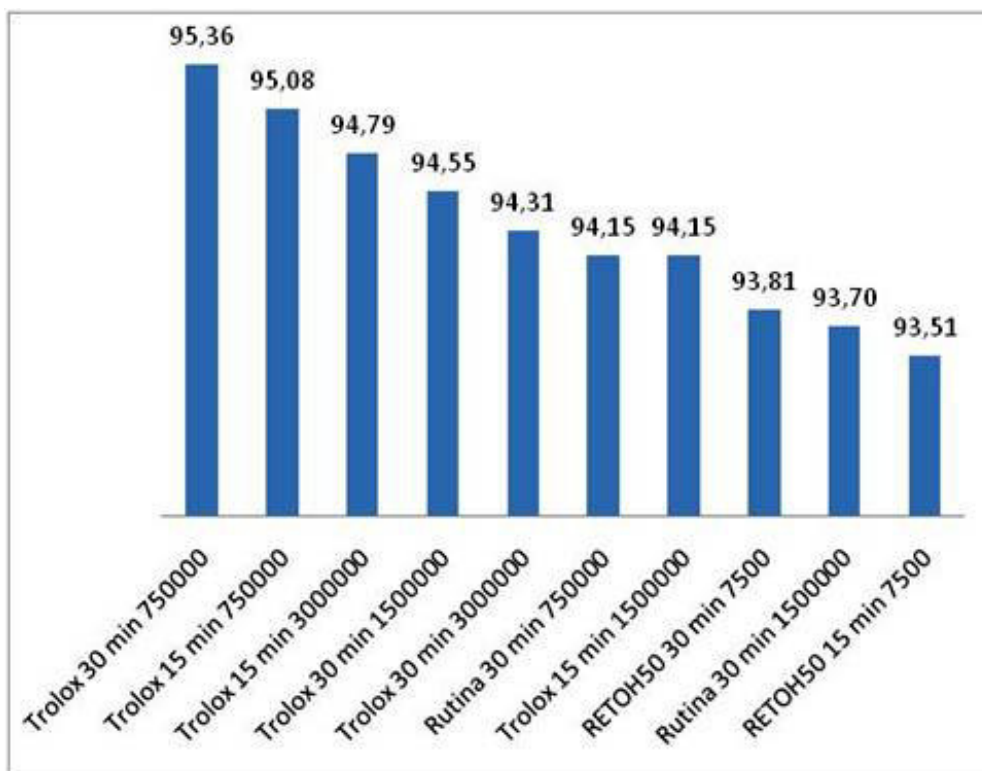


Figura 14. Substanțele și extractele din TO cu cea mai înaltă activitate de reducere a radicalului ABTS (%), după timpul de incubare și concentrație.

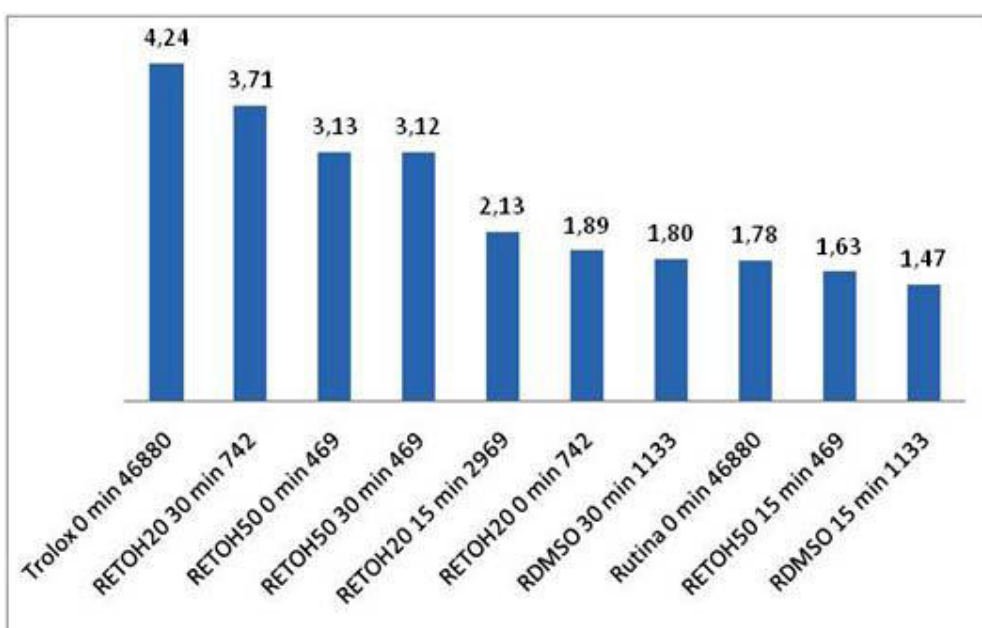


Figura 15. Substanțele și extractele din TO cu cea mai joasă activitate de reducere a radicalului ABTS (%), după timpul de incubare și concentrație.

Activitatea antiradicalică a TO în funcție de componența extractelor. La imediata măsurare cel mai promițător (91.81%) potențial antiradicalic a fost determinat în cazul

extractului radicular pe etanol de 50%, la următoarea combinație a compușilor analizați: CTP – 0.36 mg/mL, AC – 0.03 mg/mL, ACh – 0.2 mg/mL, ACG – 0.02 mg/mL, Ahx – 0.3 mg/mL, CTF – 0.07 mg/mL, Fts – 0.03 mg/mL. Cel mai puțin efectiv (1.89%) a fost extractul din rădăcini pe alcool de 20%, în care compușii chimici au atins următoarea concentrație: CTP – 0.01 mg/mL, AC – 0.001 mg/mL, ACh – 0.001 mg/mL, ACG – 0.0002 mg/mL, Ahx – 0.003 mg/mL, CTF – 0.01 mg/mL, Fts – 0.003 mg/mL (tabelul A16.23).

După 15 minute, cel mai efectiv (93.51%) a fost extractul din rădăcini pe etanol de 50%, însă de o altă concentrație a compușilor studiați: CTP – 0.18 mg/mL, AC – 0.01 mg/mL, ACh – 0.1 mg/mL, ACG – 0.01 mg/mL, Ahx – 0.15 mg/mL, CTF – 0.04 mg/mL, Fts – 0.02 mg/mL. Activitatea antiradicalică minimă (1.47%) a fost înregistrată în cazul rădăcinilor supuse extracției pe DMSO, la următoarea concentrație a compușilor: CTP – 0.02 mg/mL, AC – 0.0003 mg/mL, ACh – 0.002 mg/mL, ACG – 0.0003 mg/mL, Ahx – 0.003 mg/mL, CTF – 0.003 mg/mL, Fts – 0.002 mg/mL. Aceleași extracte au determinat valori maxime (93.81%) și minime (1.80%) după 30 minute (tabelul A16.23).

Analiza sumară a capacității antiradicalice a TO, soldată cu determinarea mediei activității inhibitorii a ABTS a pus în evidență în calitate de lider, rădăcina supusă extracției pe etanol de 50%, atingând valori maxime în 2 cazuri. Primul, (91.76%) este rezultatul combinației: CTP – 0.36 mg/mL, AC – 0.03 mg/mL, ACh – 0.2 mg/mL, ACG – 0.02 mg/mL, Ahx – 0.3 mg/mL, CTF – 0.07 mg/mL, Fts – 0.03 mg/mL. În al 2-lea caz, (91.65%) compușii testați au avut concentrație dublă: CTP – 0.73 mg/mL, AC – 0.06 mg/mL, ACh – 0.4 mg/mL, ACG – 0.05 mg/mL, Ahx – 0.6 mg/mL, CTF – 0.14 mg/mL, Fts – 0.07 mg/mL (tabelul A16.23). Acțiunea antiradicalică minimă (2.63%) a revenit extractului din rădăcini pe DMSO, a cărui componență a fost descrisă anterior la 15 și 30 minute.

Influența extractelor din TO asupra capacității antioxidante totale (TAC). Evaluarea TAC a extractelor foliare ale TO a evidențiat că, doar extractul pe DMSO a crescut statistic semnificativ (13.16 ± 0.39 u/c sau +5.5%, $p=0.05$) acest indicator față de Trolox (12.48 ± 0.07 u/c) (tabelul A11.18).

Opus rezultatelor expuse mai sus, valoarea TAC ca urmare a acțiunii extractelor foliare realizate pe etanol (20%, 50% și 80%) a fost mai joasă comparativ cu Troloxul. De menționat că, în toate aceste cazuri valorile nu au fost diferite semnificativ statistic cu proba martor (tabelul A11.18).

Capacitatea antioxidantă totală s-a dovedit a fi influențată de concentrația alcoolului utilizat, studiul de corelare stabilind asocieri pozitive ($r_s=0.65$, $p=0.004$).

În cazul TOR, extractele pe bază de alcool etilic de 20% (12.16 ± 0.21 sau +4.2%) și 80% (12.80 ± 0.24 sau +0.5%) au stimulat TAC comparativ cu proba martor (tabelul A11.18). Opus, valoarea TAC a diminuat sub influența extractelor din rădăcină pe DMSO (12.49 ± 0.47 sau -0.1%) și etanol de 50% (12.46 ± 0.13 sau -0.1%). Din toate extractele analizate doar extractul pe etanol de 20% a atins pragul statistic scontat ($p=0.05$). Studiul de corelare dintre concentrația etanolului utilizat în extractele TOR și TAC a pus în evidență asocieri pozitive puternice, statistic semnificative ($r_s=0.85$, $p=0.001$).

La compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR am observat că, medianele TAC au fost diferite statistic semnificativ, având prioritară părțile aeriene ale plantei doar în cazul extractelor pe etanol de 50% (tabelul A12.19).

Acțiunea extractelor din TO asupra masei substanțelor antioxidante (MSA). Extractele din frunze majoritar au indus creșterea MSA (tabelul A11.18). Totuși efectul stimulat a fost statistic diferit de proba martor doar în cazul extractului pe etanol de 50% (1.68 ± 0.00 sau +0.2%, $p=0.05$). Diminuarea MSA s-a atestat ca urmare a acțiunii extractelor pe etanol de 80% (1.67 ± 0.00 sau -0.4%), valoare care nu a atins pragul statistic scontat ($p=0.28$).

Extractele din rădăcini s-au dovedit a fi efective, acțiunea asupra MSA fiind dependentă de tipul și concentrația extractantului. Creșterea MSA s-a atestat ca urmare a acțiunii a extractului pe etanol de 20% (1.65 ± 0.01 sau +1.2%), fiind atins pragul statistic ($p=0.05$) (tabelul A11.18). În cazul celorlalte extracte s-a determinat diminuarea valorilor MSA comparativ cu proba martor, valori statistic diferite față de control fiind în cazul rădăcinilor extrase pe etanol de 80% (1.67 ± 0.0 sau -0.7%, $p=0.05$).

Concentrația etanolului utilizat în extractele TOR a avut un efect direct proporțional asupra MSA, stabilind asocieri statistice pozitive ($r_s=0.55$, $p=0.02$), pe când în cele ale TOF nu au fost statistic veridice.

La compararea acțiunii extractelor din TOF și TOR am determinat că, valoarea MSA ca urmare a acțiunii extractelor din rădăcini pe etanol de 50% a fost mai mare comparativ cu extractele din frunze ($p=0.05$). Prevalența frunzelor s-a atestat doar ca urmare a comparării extractelor pe DMSO. În restul cazurilor, putem afirma despre absența diferențelor statistice dintre frunze și rădăcini, cel puțin la pragul statistic scontat de 95% (tabelul A12.19).

Influența extractelor din TO asupra activității medii a antioxidanților (AMA). Nu au fost atestate modificări statistic veridice comparativ cu martorul AMA la acțiunea extractelor TOF (tabelul A11.18).

Concentrația extractantului s-a dovedit a avea influență asupra AMA, stabilind asocieri pozitive, statistic veridice ($r_s=0.51$, $p=0.02$).

Evaluând acțiunea TOR asupra activității medii a antioxidanților a crescut în majoritatea cazurilor (tabelul A11.18). Cea mai mare creștere, a activității medii a antioxidanților statistic veridică s-a atestat în urma acțiunii extractului etanolic de 20% (7.35 ± 0.10 sau +3%). AMA s-a dovedit a fi dependentă de concentrația etanolului utilizat în studiu, stabilind asocieri pozitive ($r_s=0.69$, $p=0.002$).

Analiza comparativă a rezultatelor TOF și TOR asupra activității medii a antioxidanților a permis determinarea supremației frunzelor în cazul extractelor etanolice de 50%, valori susținute de un $p \leq 0.05$. Deși la compararea extractelor pe etanol de 20% și DMSO, rezultatele vorbesc în susținerea rădăcinilor, aceste date nu au avut o confirmare statistică (tabelul A12.19).

Capacitatea antioxidantă totală, masa substanțelor antioxidante și activitatea medie a antioxidanților în funcție de compoziția extractelor. Valoarea maximală (13.16 u/c) a TAC a fost rezultatul acțiunii extractului din FDMSO, la următoarea concentrație a compușilor: CTP – 13.88 mg/mL, AC – 1.48 mg/mL, ACh – 8.16 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 11.4 mg/mL, CTF – 0.5 mg/mL, Fts – 0.38 mg/mL (tabelul A17.24). Extractul identic a cauzat valori maxime (1.75 u/c) și în cazul MSA. Rezultate minime TAC (12.16 u/c) a atins la acțiunea extractului din rădăcini pe etanol de 20%, la următoarea combinație a compușilor: CTP – 2 mg/mL, AC – 0.55 mg/mL, ACh – 0.65 mg/mL, ACG – 0.1 mg/mL, Ahx – 1.68 mg/mL, CTF – 1.74 mg/mL, Fts – 0.59 mg/mL.

MSA a înregistrat valori minime (1.65 u/c) la acțiunea extractelor din rădăcini pe DMSO, la următoarea concentrație a compușilor: CTP – 4.04 mg/mL, AC – 0.1 mg/mL, ACh – 0.76 mg/mL, ACG – 0.11 mg/mL, Ahx – 1.07 mg/mL, CTF – 0.6 mg/mL, Fts – 0.34 mg/mL (tabelul A17.24).

Activitatea medie a antioxidanților a crescut substanțial (7.87 u/c) grație extractului foliar pe etanol de 80%, la următoarea combinație a compușilor chimici: CTP – 11.52 mg/mL, AC – 0.18 mg/mL, ACh – 2.26 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 4.96 mg/mL, CTF – 6.52 mg/mL, Fts – 2.34 mg/mL (tabelul A17.24).

Valoarea minimă (7.27 u/c) a fost atinsă după acțiunea extractului etanolic 20% din frunze, la următoarea combinație: CTP – 31.4 mg/mL, AC – 5.16 mg/mL, ACh – 23.8 mg/mL, ACG – 0.88 mg/mL, Ahx – 33.8 mg/mL, CTF – 4.61 mg/mL, Fts – 1.11 mg/mL.

Rezultatul acțiunii extractelor din *Taraxacum officinale* asupra markerilor stresului oxidativ. Datele privitor la impactul extractelor din TO asupra markerilor SO sunt prezentate în tabelul A13.20 și tabelul A14.21.

Influența extractelor din TO asupra DAM. Evaluarea statistică a rezultatelor a evidențiat, că extractul din frunze pe DMSO a scăzut considerabil nivelul DAM $0.81 \pm 0.00 \mu\text{M/gHb}$, ceea ce a reprezentat -8.1% față de control ($p=0.05$) (tabelul A13.20). Extractul pe etanol de 50% ($0.83 \pm 0.00 \mu\text{M/gHb}$ sau -3.6% față de control, $p=0.05$) a fost unicul extract etanolic din frunze, care a diminuat concentrația DAM. Ambele extracte menționate au produs modificări ce au atins pragul statistic propus ($p < 0.05$).

Creșterea conținutului DAM a fost determinată în urma acțiunii extractelor realizate pe etanol 80% (+9.6%) la un $p=0.05$. Deși studiul de corelare dintre DAM și concentrația alcoolului etilic a pus în evidență asocieri pozitive, acestea nu au atins pragul statistic scontat ($r_s=0.43$, $p=0.06$).

Acțiunea extractelor din TOR asupra concentrației DAM a fost una omogenă (tabelul A14.21). În cazul tuturor extractelor au fost înregistrate valori crescute a DAM, toate atingând pragul statistic scontat. Studiul de corelare dintre concentrația etanolului utilizat în extractele TOR și concentrația DAM nu a depistat asocieri statistic semnificative ($r_s=0.29$, $p=0.14$).

În urma analizei comparative am determinat că extractele din frunze pe DMSO au diminuat concentrația DAM mai puternic comparativ cu rădăcinile ($p=0.05$). Părțile radiculare ale TO au scăzut conținutul acestei aldehide mai puternic ($p=0.05$) decât frunzele în cazul extractelor pe etanol de 50%. În cazul extractelor realizate pe etanol de 80% nu au fost înregistrate diferențe statistic semnificative ($p=0.13$) (tabelul A15.22).

Acțiunea extractelor din TO asupra metaboliților oxidului nitric. În urma analizelor statistice efectuate am observat, că extractele TOF realizate pe etanol de 80% și pe DMSO au diminuat considerabil nivelul de NO_2^- față de control, cu -19.5% ($p=0.05$) și respectiv -13.7% ($p=0.05$) (tabelul A13.20). De menționat că, un nivel scăzut de NO_2^- a fost înregistrat și în urma acțiunii extractului realizat pe etanol de 20% (1.84 ± 0.10 sau -2.1%), dar fără atingerea pragului statistic scontat. În restul cazurilor deși rezultatele indicau o creștere a NO_2^- ca urmare a acțiunii TO, diferențele față de control nu au atins cote statistic veridice. Creșterea concentrației etanolului a corelat negativ cu conținutul de nitriți ($r_s=-0.6$, $p=0.009$).

Influența extractelor din TOR asupra concentrației de NO_2^- este prezentată în tabelul A14.21. Toate extractele analizate au diminuat conținutul de NO_2^- comparativ cu controlul. Totuși, trebuie de menționat că în cazul extractelor pe DMSO (1.84 ± 0.10 sau -3.2%), etanolul de 20% (2.05 ± 0.04 sau -12%) și 50% (1.72 ± 0.02 sau -15.2%) valorile au fost statistic diferite față

de control ($p=0.02$, $p=0.05$, $p=0.05$), ceea ce nu s-a obținut în cazul extractelor pe etanol de 80%. Concentrația etanolului s-a dovedit a fi importantă, dovedind asocieri negative cu conținutul de nitriți ($r_s=-0.57$, $p=0.013$).

În urma analizei comparative am determinat că, concentrația NO_2^- a fost mai mare ($p=0.05$) ca urmare a acțiunii extractelor din rădăcină de TO, realizate pe etanol de 20% și DMSO (tabelul A15.22). În restul cazurilor nu au fost depistate diferențe statistic veridice.

Procedeele statistice au pus în evidență efectul stimulator al frunzelor de TO asupra conținutului de NO_3^- . Concentrația de nitrați a crescut abundant și statistic semnificativ ca urmare a acțiunii extractelor pe etanol de 50% (1.35 ± 0.15 sau +67.7%, $p=0.05$), 80% (1.28 ± 0.02 sau +79.4, $p=0.05$) și DMSO (1.33 ± 0.11 sau +26.7%, $p=0.05$) (tabelul A13.20). În restul cazurilor valorile obținute nu au înregistrat pragul necesar pentru a le diferenția de grupa de control. Spre deosebire de nitriți, conținutul nitraților s-a dovedit a fi direct dependent de concentrația etanolului, dovedind asocieri statistice pozitive ($r_s=0.67$, $p=0.003$).

Influența extractelor din rădăcinile de TO asupra conținutului de nitrați nu a fost una omogenă (tabelul A14.21). Rădăcinile au crescut spectaculos nivelurile de nitrați în cazul extractelor etanolice de 20% ($1.10\pm 0.10 \mu\text{M/gHb}$ sau +46.4%, $p=0.05$), 50% (1.36 ± 0.02 sau +29.6%, $p=0.05$) și 80% (1.51 ± 0.25 sau +86.9%, $p=0.05$). Asemănător părților foliare ale TO și în cazul rădăcinilor s-a determinat o corelație pozitivă dintre conținutul de nitrați și concentrația etanolului ($r_s=0.74$, $p=0.001$).

În urma analizei comparative am determinat că, concentrația NO_3^- este mai mare ca urmare a acțiunii extractelor din frunze, realizate pe bază de DMSO ($p=0.05$). În restul cazurilor nu am depistat diferențe statistic veridice dintre părțile aeriene și subterane ale TO (tabelul A15.22).

La determinarea conținutului sumar de NO_2^- și NO_3^- ca rezultat al acțiunii TOF am observat că concentrația sumară $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ a crescut ca urmare a acțiunii tuturor extractelor din frunze de TO (tabelul A13.20). Totuși, valori statistic semnificative au fost determinate doar în cazul extractelor TOF realizate pe bază de etanol de 20% (2.86 ± 0.07 sau +6.5% vs control, $p=0.05$), 50% (3.22 ± 0.04 sau +22.8%, $p=0.05$) și 80% (2.79 ± 0.03 sau +7.7%, $p=0.05$). Eseul statistic nu a atins valori semnificative la asocierea conținutului total de nitriți și nitrați cu concentrația etanolului ($r_s=-0.21$, $p=0.22$).

La evaluarea conținutului sumar de NO_2^- și NO_3^- ca urmare a acțiunii TOR, s-a stabilit că, influența rădăcinilor a fost una neomogenă (tabelul A14.21). Efectul stimulator al rădăcinilor a fost depistat în cazul extractelor pe etanol de 80% (3.21 ± 0.04 sau +22.4%, $p=0.05$). În restul cazurilor diferențele cu probele martor nu au atins valori statistic veridice. Deși asocierile

statistice dintre nitrați, nitriți și concentrația etanolului au fost diferite ca sens, conținutul sumar al acestor compuși a prezentat corelații pozitive cu concentrația etanolului ($r_s=0.56$, $p=0.01$).

Analiza comparativă a acțiunilor extractelor din TOF și TOR asupra conținutului sumar de NO_2^- și NO_3^- a permis să concluzionăm că, concentrația sumară $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ este mai mare ca urmare a extractelor din rădăcini realizate pe etanol de 20% ($p=0.05$) și 80% ($p=0.05$) (tabelul A15.22). Frunzele au crescut concentrația acestor compuși în cazul extractelor pe bază de DMSO ($p=0.05$) și etanol de 50% ($p=0.04$). În restul cazurilor nu am determinat diferențe statistice veridice.

Analiza raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ a relevat importanța tipului de extractant pentru efectul extractelor (tabelul A13.20). Raportul dintre nitriți și nitrați s-a diminuat statistic semnificativ în raport cu controlul după acțiunea extractelor din frunze în etanol de 50% (1.41 ± 0.29 sau -37.5% , $p=0.05$), 80% (1.18 ± 0.06 sau -57.7% , $p=0.05$) și DMSO (1.32 ± 0.12 sau -32.4% , $p=0.05$). În restul cazurilor comparate, valorile nu au fost statistic diferite de probele de control. Totodată, acest raport a manifestat asocieri negative, statistic veridice cu concentrația alcoolului etilic ($r_s=-0.6$, $p=0.001$).

Rădăcinile de TO, similar frunzelor, majoritar au diminuat raportul dintre nitriți și nitrați (tabelul A14.21). Totuși, în cazul rădăcinilor și-au manifestat activitatea biologică la cote statistice semnificative și extractele etanolice de concentrație joasă (20% – 1.87 ± 0.20 sau -40.3% , $p=0.05$). Acțiune identică a fost depistată și odată cu creșterea concentrației etanolului, precum în cel de 50% raportul studiat a constituit 1.26 ± 0.03 sau -37.5% ($p=0.05$), iar în cel de 80% – 1.18 ± 0.33 sau -47.7% ($p=0.05$). Asemănător frunzelor și în cazul rădăcinilor raportul dintre nitriți și nitrați a prezentat asocieri negative, statistic veridice cu concentrația alcoolului etilic ($r_s=-0.87$, $p=0.0001$).

La compararea acțiunilor extractelor din TOF și TOR am observat că, raportul conținutului de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, este mai mare în urma acțiunii extractelor din frunze realizate pe DMSO ($p=0.05$) (tabelul A15.22). În restul cazurilor nu a fost atins pragul statistic scontat.

Evaluarea acțiunii TO asupra activității nitric oxid sintazei (eNOS). În urma eseurilor statistice efectuate am determinat că, activitatea eNOS devine mai mare drept urmare a influenței extractelor din frunze de TO, realizate pe etanol de 50% (3.63 ± 0.20 sau $+28.6\%$, $p=0.05$) și DMSO (2.98 ± 0.07 sau $+19.2\%$, $p=0.05$) (tabelul A13.20). Neomogenitatea acțiunii TOF asupra eNOS s-a manifestat prin diminuarea activității acestei enzime după acțiunea extractului din frunze pe etanol de 20% (2.15 ± 0.06 sau -9.8% , $p=0.05$) și absența diferențelor statistice veridice cu grupa de control în cazul extractului pe etanol de 80%. Activitatea eNOS s-a dovedit a fi moderat dependentă de concentrația etanolului folosit ca extractant ($r_s=0.45$, $p=0.05$).

Influența rădăcinilor de TO asupra eNOS a fost una neomogenă (tabelul A14.21). Astfel creșterea activității enzimatică s-a determinat ca urmare a acțiunii extractelor etanolice de 50% (3.24 ± 0.05 sau +29.6%, $p=0.05$), efect similar înregistrat și în cazul extractelor pe DMSO (2.57 ± 0.12 sau +7.7%, $p=0.04$). În cazul rădăcinilor activitatea eNOS de asemenea a fost dependentă de concentrația etanolului ($r_s=0.74$, $p=0.0001$).

La compararea acțiunilor extractelor din TOF și TOR asupra activității eNOS am determinat că, activitatea eNOS crește ca urmare a acțiunii frunzelor extrase în DMSO ($p=0.05$) și etanol de 50% ($p=0.05$). Supremația rădăcinilor la acest capitol a fost determinată în cazul extractelor etanolice de 20% ($p=0.05$) (tabelul A15.22).

Corelațiile dintre indicii stresului oxidativ au fost evaluate pentru a stabili care sunt asocierile statistice dintre markerii stresului oxidativ în cadrul fiecărui tip de extract, fiind în continuare prezentate doar rezultatele semnificative statistic.

Corelații puternice, de sens opus au fost identificate în cazul acțiunii extractului pe DMSO. Astfel eNOS a corelat negativ cu DAM ($r_s=-1.0$, $p=0.00$) și concentrația de nitriți ($r_s=-1.0$, $p=0.00$), pe când cantitatea DAM a corelat pozitiv cu conținutul de nitriți ($r_s=1$, $p=0.00$).

În cazul extractului foliar pe etanol de 20%, DAM a corelat exclusiv pozitiv cu NO_2^- , conținutul total și raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=1$, $p=0.00$). Activitatea eNOS a diminuat odată cu creșterea cantității de NO_3^- ($r_s=-1$, $p=0.00$). Creșterea de NO_2^- a adus plus valoare la conținutul total și raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=1$, $p=0.00$).

DAM sub influența extractului foliar în etanol de 50% a înregistrat doar o asociere pozitivă cu conținutul sumar de nitriți și nitrați ($r_s=1$, $p=0.000$). Activitatea eNOS a fost direct proporțională la conținutul de nitrați ($r_s=1$, $p=0.000$) și negativ influențată odată cu creșterea valorilor nitriților și raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.000$). Cota majoritară a nitriților din cadrul acestui raport a fost susținută prin asocieri negative cu nitrații ($r_s=-1$, $p=0.000$) și pozitive cu $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=1$, $p=0.000$).

Sub influența extractului foliar în etanol de 80%, DAM a înregistrat asocieri pozitive cu NO_2^- ($r_s=1$, $p=0.00$) și corelații negative cu NO_3^- și conținutul sumar $\text{NO}_2^-+\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.000$). Creșterea conținutului de nitriți a diminuat cantitatea de nitrați și nivelul sumar $\text{NO}_2^-+\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.00$), și invers creșterea de nitrați a sporit conținutul sumar de nitriți și nitrați ($r_s=1$, $p=0.000$).

În cazul extractelor radiculare pe DMSO, creșterea DAM s-a asociat negativ cu concentrația nitraților ($r_s=-0.95$, $p=0.03$). Restul corelațiilor nu au atins pragul statistic scontat.

În urma acțiunii extractului radicular pe etanol de 20%, DAM a corelat negativ cu conținutul de nitriți, iar NO_3^- cu raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.000$). Activitatea eNOS a fost direct proporțională la conținutul total $\text{NO}_2^-+\text{NO}_3^-$ ($r_s=1$, $p=0.000$).

În cazul extractului din rădăcini pe alcool etilic de 50%, DAM a corelat pozitiv cu nitriții și negativ cu raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.000$). Activitatea NOS a fost invers proporțională la conținutul de NO_3^- , valoare similară înregistrată la asocierea NO_2^- cu raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.000$).

Sub influența extractului TOR în etanol de 80%, DAM a corelat negativ cu NO_2^- și raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.000$). Activitatea eNOS a corelat pozitiv cu concentrația NO_3^- și negativ cu conținutul sumar $\text{NO}_2^-+\text{NO}_3^-$. Cota majoritară a NO_2^- în raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ a fost confirmată statistic ($r_s=1$, $p=0.000$). Conținutul de NO_3^- a corelat negativ cu concentrația sumară $\text{NO}_2^-+\text{NO}_3^-$ ($r_s=-1$, $p=0.00$).

Acțiunea TO asupra markerilor SO în funcție de compoziția extractelor. Activitatea cea mai înaltă a DAM a fost determinată ca urmare a acțiunii a 2 extracte radiculare din TO pe etanol de 20% ($0.97 \mu\text{M/gHb}$) și 50% ($0.97 \mu\text{M/gHb}$) (tabelul A18.25). În primul caz combinația compușilor a fost: CTP – 2 mg/mL, AC – 0.55 mg/mL, ACh – 0.65 mg/mL, ACG – 0.1 mg/mL, Ahx – 1.68 mg/mL, CTF – 1.74 mg/mL, Fts – 0.59 mg/mL. În cazul extractului pe etanol de 50% concentrația compușilor activi a fost mai mare: CTP – 4.86 mg/mL, AC – 0.74 mg/mL, ACh – 5.34 mg/mL, ACG – 0.65 mg/mL, Ahx – 8 mg/mL, CTF – 0.96 mg/mL, Fts – 0.44 mg/mL. Cea mai joasă activitate a DAM ($0.70 \mu\text{M/gHb}$) a fost atestată la acțiunea extractului foliar pe etanol de 20%, la combinația: CTP – 31.4 mg/mL, AC – 5.16 mg/mL, ACh – 23.8 mg/mL, ACG – 0.88 mg/mL, Ahx – 33.8 mg/mL, CTF – 4.61 mg/mL, Fts – 1.11 mg/mL. Această combinație a compușilor chimici a determinat și cea mai joasă activitate a eNOS ($2.15 \mu\text{M/L}$).

Activitatea cea mai înaltă a eNOS ($3.63 \mu\text{M/L}$) s-a determinat ca urmare a acțiunii extractului din frunze pe etanol de 50%, iar componența compușilor chimici a fost: CTP – 38 mg/mL, AC – 5.64 mg/mL, ACh – 35 mg/mL, ACG – 1.16 mg/mL, Ahx – 48.8 mg/mL, CTF – 6.3 mg/mL, Fts – 2.51 mg/mL (tabelul A18.25).

Conținutul cel mai diminuat al NO_2^- a fost determinat după acțiunea extractului radicular pe etanol de 80% ($1.51 \mu\text{M/gHb}$), la următoarea concentrație a compușilor activi: CTP – 11.52 mg/mL, AC – 0.18 mg/mL, ACh – 2.26 mg/mL, ACG – 0.29 mg/mL, Ahx – 4.96 mg/mL, CTF – 6.52 mg/mL, Fts – 2.34 mg/mL. Cel mai înalt conținut de NO_2^- a fost determinat la acțiunea extractului radicular pe etanol de 20% ($2.05 \mu\text{M/gHb}$), iar combinația compușilor a fost aceeași care a cauzat creșterea activității DAM: CTP – 2 mg/mL, AC – 0.55 mg/mL, ACh – 0.65

mg/mL, ACG – 0.1 mg/mL, Ahx – 1.68 mg/mL, CTF – 1.74 mg/mL, Fts – 0.59 mg/mL (tabelul A18.25).

Conținutul minimal de NO_3^- a fost rezultatul acțiunii rădăcinilor supuse extracției pe DMSO (0.92 $\mu\text{M/gHb}$), iar concentrația principiilor active a fost: CTP – 4.04 mg/mL, AC – 0.1 mg/mL, ACh – 0.76 mg/mL, ACG – 0.11 mg/mL, Ahx – 1.07 mg/mL, CTF – 0.6 mg/mL, Fts – 0.34 mg/mL. Trebuie să menționăm că, aceeași combinație a cauzat creșterea raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ (2.07) și diminuarea sumei $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ (2.76 $\mu\text{M/gHb}$). Cel mai înalt conținut (1.51 $\mu\text{M/gHb}$) de NO_3^- a fost determinat în cazul extractului radicular pe etanol de 80%, la concentrația compușilor: CTP – 8.3 mg/mL, AC – 0.11 mg/mL, ACh – 1.62 mg/mL, ACG – 0.54 mg/mL, Ahx – 3.14 mg/mL, CTF – 1.28 mg/mL, Fts – 0.46 mg/mL. Aceeași combinație a cauzat unul din cele 2 rezultate minimale a raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ (1.18) (tabelul A18.25).

Al 2-lea rezultat minim (1.18) al raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ a coincis cu conținutul scăzut al NO_2^- , ambele fiind cauza acțiunii compușilor din componența extractului din frunze pe etanol de 80%, descris anterior.

Conținutul sumar $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ a înregistrat cote maxime (3.22 $\mu\text{M/gHb}$) la acțiunea extractului foliar pe etanol de 50%, care a cauzat și creșterea activității NOS. Acest conținut a înregistrat valori minime (2.76 $\mu\text{M/gHb}$) la acțiunea extractului radicular pe DMSO, iar concentrația compușilor a fost identică ca și în cazul valorilor minime de NO_3^- și rezultatului maximal al raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ (tabelul A18.25).

5.3 Evaluarea comparativă a acțiunii antiradicalice a extractelor din *Taraxacum officinale*. Celulele sunt permanent expuse acțiunii nocive a diverșilor factori, de natură externă sau internă. Radicalii liberi sunt considerați agenți nocivi, capabili de a afecta diverși compuși chimici, vitali pentru celulă, precum proteine, lipide, acizii nucleici etc. Celula în sine posedă mecanisme de luptă cu radicalii liberi, însă aportul din exterior al substanțelor cu proprietăți antiradicalice întotdeauna a fost una binevenită.

TO a fost remarcat în literatura de specialitate pentru conținutul său impunător de substanțe cu acțiune benefică pentru celulă, inclusiv antioxidantă. Luteolin și lutein-7-O-glicoside care constituie majoritatea din fracția etil acetat a TO, au fost raportate de către Koo *et al.* (2004) ca agenți activi capabili de a bloca producerea de oxid nitric și prostoglandină E2 în macrofagele activate cu LPS [185]. În opinia autorilor această activitate este realizată prin supresia sintezei indusă de COX-2 și reducerea nivelului de SRO.

Potențialul antioxidant al TO a fost descris în literatura de specialitate prin metoda DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), punând în evidență proprietăți antiradicalice promițătoare la utilizarea extractelor cu conținut înalt de acizi hidroxicinnamici [168,186]. Mai mult, autorii au determinat că, cea mai promițătoare acțiune de protecție împotriva efectului nociv a H₂O₂/Fe la oxidarea plasmii sanguine, a fost determinată în cazul extractelor cu conținut înalt de flavonoizi, lactone sesquiterpene și esterul inositol 4-hidroxfenilacetat. Rezultatele studiului nostru însă indică contrariul, care susține că concentrațiile mici și medii ale acestor acizi posedă activitate antiradicalică mai mare.

Popovic *et al.* (2001) prin aprecierea peroxidării liposomale lipidice au demonstrat că toate părțile componente ale plantei posedă acțiune antioxidantă [34]. Totodată autorii au depistat inhibiția producerii radicalilor hidroxil de către TO, iar cele mai promițătoare rezultate au fost identificate în cazul extractelor din flori pe etil acetat și apă. În cazul studiului nostru, cea mai promițătoare activitate antiradicalică a fost descrisă în cazul extractelor radiculare pe etanol de 50%.

Acțiunea antiradicalică a TO pare a fi mult mai amplă. Milosevic *et al.* (2003) au prezentat date elocvente, care demonstrează că toate părțile componente ale TO pot inhiba generarea de radicali hidroxil (OH•), care reprezintă factorii de bază în degradarea ulterioară a dezoxiribozei [187]. Cea mai potentă acțiune a fost descrisă în cazul extractelor din flori pe etil acetat și apă, similar cu datele raportate anterior de Popovic *et al.* (2001). Apropiate după rezultat au fost și extractele din frunze pe cloroform și etil acetat, urmând după activitate extractele din rădăcini pe eter și n-butanol.

Wojdilo *et al.* (2007) au descris potențialul înalt al extractului radicular pe metanol de 80% capabil de a inhiba radicalul DPPH [61]. Trebuie însă de menționat că, opus opiniilor existente în literatură, activitatea antioxidantă nu a corelat cu CTP. În aceeași ordine de idei, Choi *et al.* (2002) utilizând testul cu peroxinitrit (*ONOO(-) scavenging assay*) au concluzionat că extractul metanolic de TO (5 μg/mL) în pofida înaltului conținut de CTP a prezentat cea mai joasă activitate antioxidantă din 28 de plante testate [62]. Studiul nostru susține ideea, precum că conținutul înalt de CTP sau CTF nu coincide cu activitate antiradicalică înaltă, factorii determinanți fiind combinațiile dintre concentrațiile compușilor chimici. Reiterăm faptul, că concentrațiile mici și medii ale compușilor testați au prezentat acțiune antiradicalică mai mare comparativ cu concentrațiile înalte.

Tipul extractantului s-a dovedit a fi important și în cadrul realizării funcției antiradicalice. Conform datelor lui Hu *et al.* (2003), care au investigat proprietățile chimice și bioactive ale florilor de TO în extractele hidrice și pe etil acetat, conținutul și activitatea realizată au fost

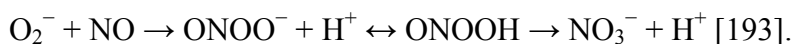
diferite [188]. Deși ambele extracte au manifestat activități antiradicalice, reducând leziunea oxidativă a ADN-ului și liposomilor fosfatidilcolinei de către radicalul peroxid, activitatea extractului pe etil acetat a fost net superioară comparativ cu extractul hidric. Totodată autorii au menționat importanța concentrației TO, semnalând corelații statistice negative. Astfel, activitate prooxidantă sporită a fost determinată la concentrații mici ale TO, sugerând că puterea de reducere a florilor de TO constă în generarea ionilor reactivi de cupru, iar concentrațiile înalte, în special pe etil acetat nu susțin oxidarea în prezența cuprului, deoarece activitatea de *scavenger* al radicalilor liberi a fost suficientă pentru minimizarea potențialului oxidativ al ionilor de metal, asociat cu activitatea prooxidantă.

SO poate fi definit ca dezechilibrul dintre sistemul oxidant și antioxidant [189]. În organismul uman, la nivel celular și extracelular există un șir de compuși enzimatici și non-enzimatici cu acțiune antioxidantă. Astfel protecția antioxidantă nu poate fi atribuită unui singur compus. Studiile epidemiologice demonstrează că, consumul de fructe și legume cu conținut înalt de antioxidanți se asociază cu morbiditatea scăzută prin boli oncologice și degenerative. Conform datelor prezentate de Pellegrini *et al.* (2003) dintre vegetalele cultivate la scară largă, spanacul, ardeiul și sparanghelul au cea mai înaltă capacitate antioxidantă [190]. Totuși, sursele vegetale conțin antioxidanți diverși după tipul de acțiune, iar determinarea lor separată este destul de laborioasă. Capacitatea antioxidantă totală ia în calcul efectul cumulativ al tuturor antioxidanților și analizează capacitatea cumulativă a tuturor componentelor nutriționale de acțiune în calitate de *scavenger* pentru radicalii liberi.

Rezultatele studiului nostru relevă că, TO reprezintă o sursă importantă de antioxidanți exogeni. Indicii studiați: capacitatea antioxidantă totală și masa substanțelor antioxidante, au menținut cote superioare față de control în cazul la toate extractele testate. Totuși, cele mai importante rezultate la acest capitol au fost determinate în cazul extractelor foliare pe DMSO și etanol de concentrație înaltă. Conform lui Pisoschi *et al.* (2016) markerii în cauză reprezintă rezultatul acțiunii CTP și CTF, care în extractele menționate anterior au atins cote maxime [191]. Aceste afirmații sunt susținute și de Aremu *et al.* (2019) care au constatat că, capacitatea antioxidantă totală a frunzelor de TO este mai mare (82.56%) comparativ cu rădăcinile (61.54%), fapt datorat CTP și CTF [25]. În literatura de specialitate însă, sunt date care indică că conținutul înalt de fenoli nu este factorul primordial care susține activitatea antioxidantă înaltă. Astfel, conform datelor prezentate de Özcan *et al.* (2012), rădăcinile de TO posedă activitate antioxidantă mai mare (20.58%), comparativ cu frunzele (14.67%), la un conținut practic similar (1.997 la 2.019 mg GAE/L extract) de fenoli [192].

Trebuie să subliniem faptul că, conform rezultatelor studiului nostru, nu numai conținutul, dar și raportul cantitativ al compușilor chimici determină efectul final.

Ațiunea citotoxică a NO este realizată grație abilității sale de a produce un oxidant puternic, peroxinitritul în reacție cu radicalul superoxid. În adăție, la reacție cu O₂, NO poate forma ONOO⁻, ulterior finalizând cu formarea de NO₃⁻, conform reacției



În literatură există multiple evidențe că ONOO⁻/ONOOH reprezintă factori activ implicați în diverse procese patologice, promovând nitrarea și hidroxilarea diversilor compuși celulari. De asemenea O₂⁻, NO și peroxinitritul sunt frecvent descriși în inflamații acute, iar concentrațiile înalte ale acestora produc apoptoză sau necroză [191].

Conform datelor din literatura de specialitate, extractele din frunze de TO exercită acțiune antiangiogenică, antiinflamatorie și antinociceptivă realizate prin inhibarea producerii de NO și a expresiei COX-2 [194]. Datele recente sumarizate de Tabasum *et al.* (2018) caracterizează TO drept plantă care ameliorează stresul oxidativ exercitând acțiuni modulatorii asupra iNOS, COX-2, TNF- α și IL-1 α [144]. Conform datelor prezentate de Hu *et al.* (2005), TO are posibilitatea de a supresa producerea de NO, prostoglandina E₂ și o serie de citokine proinflamatorii [56]. Interesant este faptul că supresia expresiei iNOS și COX-2 nu a corelat cu reducerea activității enzimatică. Mai mult, Koh *et al.* (2010) consideră că acțiunea frunzelor de TO asupra mediatorilor stresului oxidativ menționați, are loc într-o manieră dependentă de doză, prin inactivarea MAPK [45]. Referitor la componenții bioactivi, Park *et al.* (2011) au depistat că, luteolina și acidul cicoric acționează sinergic în calitate de antiinflamatori prin inactivarea PI3K/Akt (*phosphatidylinositol-3-kinase*) și NF-kB [51]. Aceste date vin în susținerea rezultatelor prezentate anterior de Jackson *et al.* (2008) care au argumentat acțiunea antiinflamatoare a TO, prin inhibarea activității factorului proinflamator NF-kB, blocarea expresiei COX-2, TNF- α , IL-1, IL-6 și iNOS, diminuarea NO, SRO, leukotrienilor și prostaglandinelor [52]. Studiul nostru a permis conștientizarea acțiunii modulatorii a TO, care indică posibilitatea acestei plante de a stimula sau inhiba expresia mediatorilor inflamatori, acționând fie ca remediu antiinflamator sau proinflamator. Efectul final scontat, depinde de partea plantei, tipul extractantului și concentrațiile compușilor chimici componenți ai TO.

DAM reprezintă o aldehydă tricarbonică, cu masa moleculară joasă, produsă prin acțiunea radicalilor liberi asupra acizilor grași nesaturați ai membranelor biologice [189]. Hagymasi *et al.* (2000) au prezentat dovezi care certifică că, atât frunzele cât și rădăcinile de TO pot diminua nivelul DAM și al produselor acesteia, considerați markeri ai stresului oxidativ [58]. Autorii au

menționat că, extractele foliare au fost mai efective în protecția membranelor ($IC_{50}=0.55$ mg/mL) comparativ cu rădăcinile ($IC_{50}= 1$ mg/mL). Totodată autorii au menționat că, TO poate stimula activitatea NADPH-cytochrome P-450 reductazei, chiar și în absența cofactorului NADPH.

Conform datelor lui Aremu *et al.* (2019) extractele foliare și radiculare pe etanol de 70% au diminuat efectiv nivelul DAM, corelând acest efect cu conținutul de CTP și CTF [25]. Studiul nostru, confirmă faptul că TO poate modifica indicii stresului oxidativ, însă această acțiune este una modulatorie, stimulatorie sau inhibitorie, fiind dependentă de partea plantei, tipul extractantului și conținutul compușilor chimici studiați (CTP, CTF, fitosteroli). Astfel, cel mai mic conținut a DAM (0.70 mg/mL) a fost determinat în cazul extractului foliar pe etanol de 20%, în care s-au determinat concentrații înalte ale compușilor studiați. Acest fapt pare să confirme datele prezentate de Aremu *et al.* (2019), însă un alt conținut scăzut a DAM (0.75 mg/mL) a fost determinat în cazul extractului radicular pe DMSO, a cărui conținut de compuși chimici, inclusiv CTP și CTF, a fost unul minimal. Aceasta presupune că, extractele în cauză conțin și alte clase de compuși bioactivi, capabili de a crește efectul antioxidant al fenolilor și flavonoizilor. Mai mult, concentrațiile mici de compuși testați în cazul extractelor radiculare pe etanol au dus la creșterea conținutului DAM.

În concluzie, putem afirma că *Taraxacum officinale* posedă componente bioactive capabile de a reduce radicalul ABTS. Această activitate depinde de partea componentă a plantei, tipul și concentrația extractantului, precum și timpul de acțiune. Concentrația extractului influențează direct proporțional reducerea radicalului ABTS. Însă soluția concentrată de TO nu reprezintă echivalentul unei activități antioxidante înalte. Creșterea timpului de incubare micșorează concentrația medie inhibitoare IC_{50} . Cele mai efective în procesul de inhibiție a ABTS-ului s-au dovedit a fi REtOH50 la 30 minute și 7,500 μ g/L (93.81%, DS – 1.18, 95% ÎI: 91.5-96.12), precum și REtOH50 15 minute 7,500 μ g/L (93.51%, DS – 1.03, 95% ÎI: 91.49-95.53). Mai puțin efective în reducerea radicalului ABTS sunt extractele radiculare de TO, REtOH20 0 minute 742 μ g/L, REtOH20 15 minute 2,969 μ g/L, REtOH20 30 minute 742 μ g/L, REtOH50 469 μ g/L în toate intervale de timp, și RDMSO 1,133 μ g/L după 15 și 30 minute de incubare. Creșterea concentrației etanolului din extract duce la diminuarea reducerii radicalului ABTS în cazul extractelor foliare. În cazul rădăcinilor nu s-au depistat corelații statistice semnificative.

Totodată putem afirma, că acțiunea extractelor din *Taraxacum officinale* asupra capacității antioxidante totale este neomogenă, demonstrând atât efecte stimulative, cât și inhibitorie. Creșterea cea mai elocventă a fost stabilită în cazul extractelor din frunze pe DMSO, iar cea mai

drastică diminuare a fost ca urmare a acțiunii extractului din frunze pe etanol de 80%. Efectul *Taraxacum officinale* asupra masei substanțelor antioxidante la fel a fost una neomogenă, creșterea cea mai semnificativă fiind rezultatul acțiunii extractului din rădăcini pe etanol de 20%, iar diminuarea cea mai drastică în cazul extractului radicular pe etanol de 80%. Activitatea medie a antioxidanților a crescut cel mai puternic ca urmare a acțiunii extractelor din rădăcini pe etanol de 20%, iar diminuarea cea mai semnificativă s-a atestat sub influența extractelor din frunze pe etanol de 20%. Concentrația etanolului s-a dovedit a fi importantă, stabilind în toate cazurile studiate asocieri direct proporționale cu capacitatea antioxidantă totală, masa substanțelor antioxidante și activitatea medie a antioxidanților, atât în cazul frunzelor, cât și rădăcinilor.

Extractele din *Taraxacum officinale* acționează și asupra markerilor stresului oxidativ, influență care depinde de partea plantei, tipul și concentrația extractantului. Acțiunea TO asupra conținutului DAM este neomogenă: creșterea acesteia cea mai vădită a fost determinată în cazul extractelor din rădăcini pe etanol de 20%, precum și în cazul extractelor din frunze pe etanol de 80%. Extractele de TO pot diminua cantitatea de DAM la utilizarea frunzelor extrase pe DMSO. Conținutul de nitriți a diminuat ca urmare a acțiunii majorității tipurilor de extracte din TO, concentrația de nitrați însă a crescut sub influența TO. Cantitatea totală de nitriți și nitrați crește sub influența TO. Raportul dintre nitriți și nitrați s-a micșorat sub influența majorității tipurilor de extracte utilizate în studiu. Activitatea eNOS a crescut sub influența TO în majoritatea cazurilor. Diminuarea eNOS s-a atestat doar ca urmare a acțiunii extractelor din frunze și rădăcini în etanol de concentrație joasă.

6. ACȚIUNEA EXTRACTELOR DIN *TARAXACUM OFFICINALE* ASUPRA VIABILITĂȚII CELULARE

Afecțiunile neoplazice reprezintă o problemă dificilă a medicinei contemporane, caracterizate prin indici în creștere a morbidității și mortalității. Companiile farmaceutice propun multiple preparate antitumorale, care de rând cu efectul benefic pentru pacient provoacă și un șir de efecte secundare grave, precum mutagenitate, carcinogenitate, teratogenitate, mielosupresie, imunosupresie, toxicitate cardiacă, pulmonară, hepato- și nefrotoxicitate. Efectele secundare se dezvoltă grație acțiunii citotoxice a acestor remedii asupra celulelor sănătoase. Astfel, dezvoltarea de noi substanțe cu efect antitumoral, care ar putea să exercite acțiune antiproliferativă și citotoxică exclusiv în celulele tumorale, rămâne a fi o provocare pentru contemporaneitate.

6.1 Material și metode

Activitățile biologice ale compușilor testați (extractele de TO) au fost comparate cu activitatea antitumorală a Doxorubicinei ((7S, 9S)-7-[(2R, 4S, 5S, 6S)-4-amino-5-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi-6,9,11-trihidroxi-9-(2-hidroxiacetyl)-4-metoxi-8,10-dihidro-7H-tetracen-5,12-dione) în calitate de compus de referință, aprobat de Agenția Federală pentru Hrană și Medicamente a Statelor Unite (FDA, Food and Drug Administration) (figura 16).

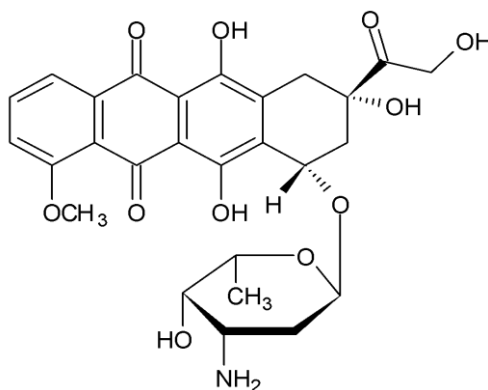


Figura 16. **Formula de structură a Doxorubicinei**

Compușii de referință au fost dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO) pentru a crea soluții stoc de 10 mM care au fost depozitate la 7°C. Înainte de utilizare, soluțiile stoc de Doxo (de 10⁵ și 54,000 μg/L) au fost diluate în dependență de natura experimentului, cu mediu de cultură celulară sau cu soluție fiziologică la concentrațiile necesare.

Cultivarea celulelor. Investigarea activității antitumorale a compușilor testați asupra celulelor gliomului uman U-251 MG (Cell Lines Service, DE) a fost efectuată prin testele cu MTT (3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazoliu) și Resazurină.

Liniile celulare au fost păstrate în faza de vapori de azot lichid la (-180°C – -196°C). Dezghețarea s-a efectuat în baia de apă la 37°C, agitând ușor timp de 2 minute. După decontaminarea recipientului (scufundare în alcool 70%) s-a transferat conținutul în eprubetă, la care s-au adăugat 9 mL de mediu de creștere DMEM. Toate manipulările au fost efectuate în condiții aseptice (ESCO Laminar Flow Cabinet, KR). Ulterior eprubeta cu celule a fost centrifugată la 125 x g (centrifuga MPW 370), timp de 7 minute. Totodată plăcile pentru cultivare (2 plăci, cu 9 mL DMEM fiecare) au fost plasate în incubator la 37°C timp de 30 minute. La atingerea pH-ului în limitele 7-7,6 celulele au fost resuspendate în aceste plăci, urmând incubarea la 37°C cu 5% CO₂ în atmosfera incubatorului.

Mediul utilizat pentru creștere și cultivare a constat din Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Sigma, D5796-500 mL, DE), cu conținut crescut de glucoză la care a fost adăugat Ser Fetal Bovin (FBS, Sigma, DE) până la atingerea concentrației finale de 10%. Pentru prevenirea fenomenului de infectare s-au adăugat 100 μg/mL streptomicină (Sigma, DE) și 100 UI/mL penicilină (Sigma, DE).

Rata de subcultivare în cazul gliomului U-251 MG a fost de 1 la 4. Reînnoirea mediului a fost efectuată la fiecare a 2-a zi. Viabilitatea celulelor a fost evaluată înainte de efectuarea experimentelor prin colorare cu Trypan Blue ((3Z, 3'Z)-3,3'-[(3,3'-dimetilbifenil-4,4'-diil) di (1Z) hidrazin-2-il-1-iliden] bis (5-amino-4-oxo-3,4-dihidronaftalen-2,7-disulfonic acid) Gibco™, USA), conform protocolului Thermo Fisher (<https://www.thermofisher.com/md/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/cell-culture-protocols/trypan-blue-exclusion.html>).

Pentru calcularea procentajului de celule vii s-a utilizat formula 7:

$$\text{Viabilitate TB (\%)} = (1 - (\text{Numărul celulelor albastre} / \text{Numărul total de celule})) \times 100 \quad (7)$$

Pentru a aprecia influența TO asupra activității metabolice a celulelor, a fost important de utilizat celule aflate în faza de creștere logaritmică (figura 17). Corespunderea culturilor celulare Log-fazei a fost stabilită prin compararea numărului de celule (*per* mL) înainte de experiment, cu numărul de celule din placa de cultivare după 24 ore. Creșterea numărului de cel puțin 2 ori a certificat activitatea proliferativă înaltă a culturii celulare sau Log-faza.

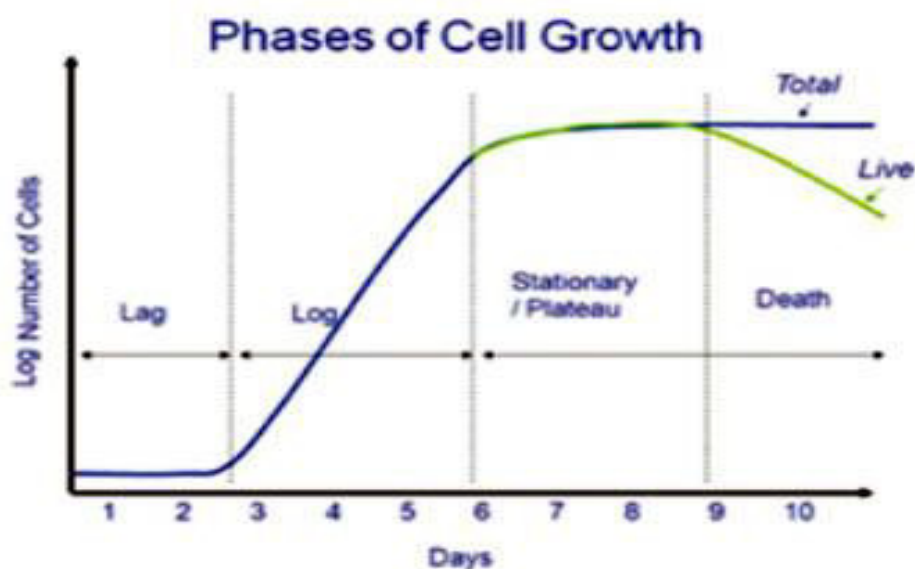


Figura 17. Fazele de creștere a celulelor.

(<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/cell-types-culture.html>)

Studiul viabilității celulare cu testul MTT. Metoda în cauză reprezintă un test colorimetric pentru cuantificarea celulelor viabile. Esența acestuia constă în reducerea metabolică a bromurii de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium sau bromurii de metil tiazol tetrazoliu (MTT) de către enzimele celulare, precum oxidoreductaze NAD(P)H-dependente și glutation S-transferaza. Aceste enzime transformă MTT-ul dintr-un compus solubil hidrofil de culoare galbenă, într-un compus insolubil hidrofob purpuriu (formazan) (figura 18). Reacția în cauză rezultă prin clivarea inelului de tetrazoliu doar dacă activitatea celulară nu este afectată.

Experimentul a fost realizat conform metodei descrise de Mosmann, 1983 [195].

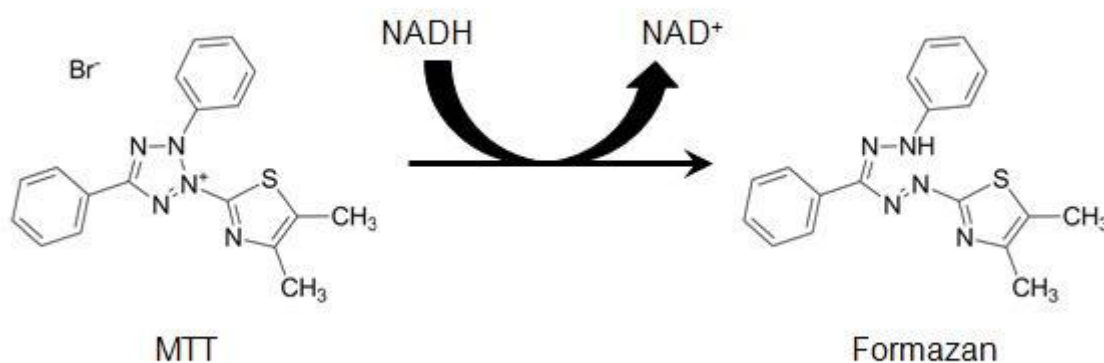


Figura 18. Reacția de reducere a MTT la Formazan.

Rezultatele testului au fost raportate ca procentul celulelor viabile, rămas după acțiunea extractelor de TO (formula 8). Formula de calcul a avut ca bază recomandările lui Karakas *et al.* (2017), modificată în cadrul Laboratorului de biochimie, în care au fost luate în considerare și valorile Blank-ului [196].

Formula

$$\text{Viabilitatea (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{specimen}} - \text{OD}_{\text{Blank}}}{\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{Blank}}} \times 100 \quad (8)$$

unde,

$\text{OD}_{\text{specimen}}$ – densitatea optică a specimenului studiat (celule + MTT + extract TO);

$\text{OD}_{\text{control}}$ – densitatea optică a godeurilor control (celule + MTT + extractant în diluția corespunzătoare).

OD_{Blank} – densitatea optică a godeurilor cu Blank (extractantul în diluția corespunzătoare);

Evaluarea viabilității celulare cu testul Resazurină (alamarBlue). Testul cu Resazurină, folosit pentru prima dată de Erb și Ehlers (1950), se bazează pe conversia compusului numit alamarBlue (Resazurină) la resorufină de către celulele vii (figura 19). Resazurina (10-oxid 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-onă) este cunoscut ca un redox oxidant albastru, capabilă de a trece liber prin citolemă și membranele mitocondriale, unde este redusă de dehidrogenaze și transformată într-un compus roz fluorescent (resorufină), iar intensitatea acestuia este direct proporțională cu numărului de celule vii.

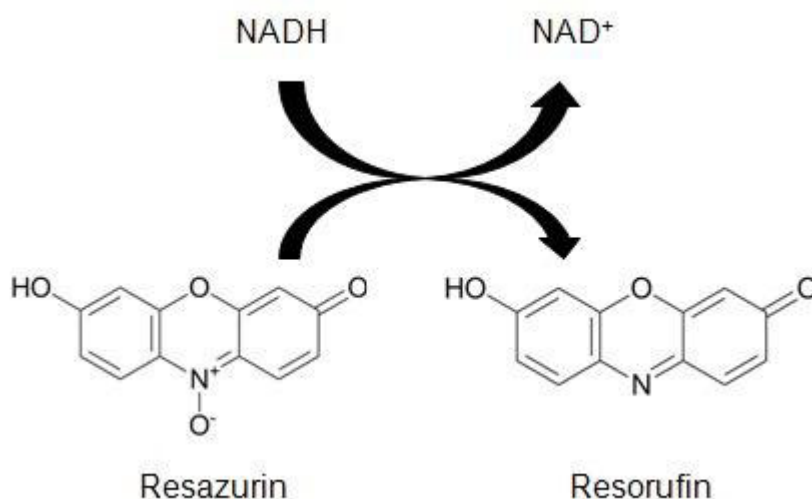


Figura 19. **Mecanismul de reducere a Resazurinei la Resorufin.**

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>)

Acest test este considerat a fi superior MTT-ului. Conform datelor literaturii testul cu Resazurină implică cantități minore de celule *per godeu* (~100). Dat fiind faptul că celulele gliale sunt caracterizate printr-o activitate metabolică redusă s-a considerat oportun de utilizat aceeași cantitate de celule ca și în testul cu MTT.

Inhibiția procentuală a celulelor tumorale realizată de substanțele testate s-a calculat luându-se ca bază compararea capacității tumorilor gliale supuse experimentului de a reduce Resazurina comparativ cu controlul pozitiv (celule fără extracte din TO). Altfel spus, acest procent definește diferența dintre cantitatea de Resazurină redusă de către celulele din controlul pozitiv și celulele supuse tratamentului. Nu a fost folosit termenul de citotoxicitate fiindcă nu am realizat controlul numeric, vizual după acțiunea extractelor de TO. În plus, o potențială acțiune a extractelor studiate ar putea fi efectul citostatic și nu citocid. Formula 9 de calcul utilizată ia în considerare și coeficientul de extincție molară a Resazurinei oxidate în dependență de lungimea de undă la care a fost măsurată absorbanta (http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/PI-DAL1025-1100_TI%20AlamarBlue%20Rev%201.1.pdf):

Formula

$$\text{Viabilitatea (\%)} = \frac{A_{570\text{ nm}} - A_{600\text{ nm}}}{A_{570\text{ nm}}^{\circ} - A_{600\text{ nm}}^{\circ}} \times 100 \quad (9)$$

unde,

A – absorbanta în godeurile cu celule supuse tratamentului;

A[°] – absorbanta în cazul controlului pozitiv;

570 nm, 600 nm – lungimea de undă, la care s-a măsurat absorbanta.

Viabilitatea calculată după rezultatele cu Resazurină a fost comparată cu viabilitatea rezultată în urma testului cu MTT. Totodată s-au calculat valorile IC₅₀, conform ecuației lui Hill, instrument de calcul din dotarea GraphPad Prism 8.0 [197].

6.2 Rezultatul acțiunii compușilor de referință și a extractelor din *Taraxacum officinale* asupra viabilității celulare

Testul cu MTT

Acțiunea Doxorubicinei. În cazul acestui experiment am utilizat Doxo de 10⁵ μg/L, diluată ulterior succesiv de 7 ori (tabelul 2). Cea mai pronunțată activitate antitumorală s-a determinat la utilizarea soluției stoc de 10⁵ μg/L (70.61%, DS – 15.66, 95% ÎÎ: 39.92-101.3). Diminuarea concentrației medicamentului în cauză a dus la sporirea viabilității celulelor tumorale, rezultate

susținute prin testul de corelare ($r_s=-0.67$, $p=0.000$). Concentrația medie inhibitoare în cazul Doxo a fost echivalentă cu 49.76 $\mu\text{g/L}$ (figura A19.20).

Tabelul 2. Viabilitatea glioblastomului U-251 MG sub influența Doxo și extractelor foliare, radiculare din TO pe DMSO, evaluate prin metoda MTT.

Doxo		FDMSO		RDMSO	
C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %
	X \pm DS		X \pm DS		X \pm DS
100,000	70.61 \pm 15.66	110,000	58.85 \pm 9	145,000	72.04 \pm 2.7
20,000	80.79 \pm 4.9	22,000	68.8 \pm 7.88	29,000	92.7 \pm 8
4,000	81.96 \pm 10.39	4,400	79.21 \pm 0.32	5,800	90.76 \pm 8.9
800	80.6 \pm 2.32	880	79.72 \pm 5.61	1,160	92.47 \pm 2.38
160	85.22 \pm 4.66	176	83.26 \pm 1.97	232	93.95 \pm 0.64
32	89.92 \pm 2.49	35.2	83.3 \pm 2.69	46.4	95.2 \pm 1.41
6.4	92.85 \pm 4.88	7.04	84.54 \pm 4.11	9.28	96.22 \pm 2.18
1.28	92.26 \pm 2.23	1.408	90.31 \pm 3.91	1.86	97.4 \pm 1.69
LogIC ₅₀	1.70 $\mu\text{g/L}$	LogIC ₅₀	1.83 $\mu\text{g/L}$	LogIC ₅₀	2.39 $\mu\text{g/L}$
IC ₅₀	49.76 $\mu\text{g/L}$	IC ₅₀	67.19 $\mu\text{g/L}$	IC ₅₀	246.4 $\mu\text{g/L}$
R ²	0.77		0.95		0.86
r _s	-0.67		-0.86		-0.61
p	0.000		0.000		0.0001

Notă: Doxo100 – concentrația Doxorubicinei; FDMSO – extract pe DMSO din frunze de TO; RDMSO – extract din rădăcini de TO pe DMSO, C – concentrația compușilor testați ($\mu\text{g/L}$).

Acțiunea TOF. În cazul extractului foliar pe DMSO, cea mai promițătoare acțiune antitumorală a fost determinată la concentrația de 110,000 $\mu\text{g/L}$ (58.85%, DS – 9, 95% Î: 39.35-78.35) (tabelul 2). Creșterea concentrației extractului a diminuat viabilitatea celulelor tumorale ($r_s=-0.86$, $p=0.000$). Concentrația IC₅₀ a fost echivalentă cu 67.19 $\mu\text{g/L}$.

În cazul extractului etanolic de 20% cea mai pronunțată inhibiție a viabilității tumorale s-a determinat la concentrația de 140,000 $\mu\text{g/L}$ (76.6%, DS – 6.22, 95% Î: 64.41-88.79). Creșterea concentrației extractului a condus la diminuarea viabilității glioblastomului ($r_s=-0.84$, $p=0.000$). Concentrația medie inhibitoare a fost echivalentă cu 77.15 $\mu\text{g/L}$ (tabelul 3).

La utilizarea extractului foliar pe etanol de 50%, viabilitatea a fost cel mai tare diminuată la concentrația de 150,000 $\mu\text{g/L}$ (36.6%, DS – 4.92, 95% Î: 26.96-46.24). Această acțiune a fost în relație doză-efect: odată cu creșterea concentrației extractului viabilitatea glioblastomului a diminuat ($r_s=-0.67$, $p=0.0002$). Valoarea lui IC₅₀ a echivalat cu 7,099 $\mu\text{g/L}$ (figura A20.21).

Asemănător extractelor precedente, la utilizarea frunzelor de TO pe etanol de 80%, cea mai promițătoare activitate antitumorală s-a depistat la concentrația maximă, de 40,000 $\mu\text{g/L}$ (44.98%, DS – 5.21, 95% Î: 34.77-55.19) (tabelul 3). Valoarea IC₅₀ a fost echivalentă cu 4.36

$\mu\text{g/L}$. Creșterea concentrației extractului în cauză a diminuat viabilitatea tumorii, fapt susținut statistic ($r_s=-0.87$, $p=0.000$).

Importanța concentrației extractantului a fost dovedită prin stabilirea de asocieri negative, statistic veridice dintre concentrația etanolului și viabilitatea tumorii ($r_s=-0.51$, $p=0.000$).

Tabelul 3. **Activitatea antitumorală (U-251 MG) a extractelor etanolice din frunze de TO evaluată prin metoda MTT**

FEtOH20		FEtOH50		FEtOH80	
C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %
	X \pm DS		X \pm DS		X \pm DS
140,000	76.6 \pm 6.22	150,000	36.6 \pm 4.92	40,000	44.98 \pm 5.21
28,000	80.47 \pm 2.78	30,000	74.09 \pm 5.11	8,000	51.9 \pm 5.12
5,600	86.06 \pm 4.93	6,000	85.77 \pm 6.8	1,600	52.55 \pm 0.81
1,120	87.13 \pm 2.92	1,200	89.84 \pm 2.05	320	51.75 \pm 0.83
224	89.78 \pm 5.82	240	91.53 \pm 0.73	64	53.73 \pm 6.78
44.8	91.87 \pm 1.94	48	89.5 \pm 4.09	12.8	69.02 \pm 1.81
8.96	92.55 \pm 2.42	96	91.52 \pm 7.27	2.56	85.81 \pm 3.87
1.792	95.6 \pm 1.61	1.92	91.56 \pm 0.72	0.512	94.12 \pm 4.75
LogIC ₅₀	1.89 $\mu\text{g/L}$	LogIC ₅₀	3.85 $\mu\text{g/L}$	LogIC ₅₀	0.64 $\mu\text{g/L}$
IC ₅₀	77.15 $\mu\text{g/L}$	IC ₅₀	7099 $\mu\text{g/L}$	IC ₅₀	4.36 $\mu\text{g/L}$
R ²	0.87		0.33		0.67
r _s	-0.84		-0.67		-0.87
p	0.000		0.0002		0.000

Notă: FEtOH– extract pe etanol din frunze de TO; 20, 50 80 – concentrația etanolului. C – concentrația compușilor testați ($\mu\text{g/L}$).

Acțiunea TOR. Cea mai promițătoare acțiune antitumorală în cazul extractelor radiculare pe DMSO a fost stabilită la concentrația de 145,000 $\mu\text{g/L}$ (72.04%, DS – 2.7, 95% ÎÎ: 66.75-77.33) (tabelul 4). Acțiunea antitumorală a fost dependentă de doză, stabilind asocieri negative, statistic semnificative cu viabilitatea tumorii ($r_s=-0.61$, $p=0.0001$). Valoarea IC₅₀ a fost egală cu 246.4 $\mu\text{g/L}$ (figura A21.22).

În cazul extractului etanolic de 20%, inhibarea cea mai evidentă a viabilității tumorale de până la 76.81% (DS – 6.11, 95% ÎÎ: 64.83-88.79) a fost stabilită la utilizarea extractului de 95,000 $\mu\text{g/L}$ (tabelul 4). Valoarea concentrației medii inhibitorii a fost echivalentă cu 92.9 $\mu\text{g/L}$. Creșterea concentrației extractului a stabilit asocieri de talie înaltă, negative, statistic semnificative cu viabilitatea tumorii ($r_s=-0.99$, $p=0.000$).

Tabelul 4. Acțiunea extractelor etanolice radiculare din TO asupra viabilității glioblastomului U-251 MG evaluată prin metoda MTT

REtOH20		REtOH50		REtOH80	
C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %
	X±DS		X±DS		X±DS
95,000	76.81±6.11	60,000	84.86±1.61	50,000	48.61±3.89
19,000	86.85±0.84	12,000	87.51±0.94	10,000	69.26±2.95
3,800	88.76±0.76	2,400	90.49±3.37	2,000	73.53±3.77
760	89.75±1.06	480	91.01±1.55	400	74.62±5.9
512	91.11±0.51	96	92.45±0.69	80	91.3±6.26
30.4	92.17±0.11	19.2	94.76±1.18	16	89.48±1.45
6.08	92.81±0.19	3.84	96.04±1	3.2	91.71±2.18
1.216	95.67±1.16	0.768	83.3±1.67	0.64	93.77±1.35
LogIC ₅₀	1.97 μg/L	LogIC ₅₀	1.45 μg/L	LogIC ₅₀	2.25 μg/L
IC ₅₀	92.9 μg/L	IC ₅₀	28.3 μg/L	IC ₅₀	177.7 μg/L
R ²	0.85		0.83		0.42
r _s	-0.99		-0.32		-0.90
p	0.000		0.04		0.000

Notă: REtOH– extract pe etanol din rădăcini de TO; 20, 50 80 – concentrația etanolului. C – concentrația compușilor testați (μg/L).

La utilizarea extractului etolic de 50%, cea mai pronunțată activitate inhibitorie s-a determinat la concentrația de 60,000 μg/L (84.86%, DS – 1.61, 95% Î: 81.70-88.02) (tabelul 4). Valoarea IC₅₀ a fost egală cu 28.3 μg/L. Creșterea concentrației extractului a diminuat viabilitatea glioblastomului (r_s=-0.32, p=0.04).

În cazul etanolului de concentrație maximă, 80%, cea mai promițătoare activitate antitumorală s-a determinat la concentrația de 50,000 μg/L (48.61%, DS – 3.89, 95% Î: 40.99-56.23) (tabelul 4). Valoarea IC₅₀ a fost stabilită egală cu 177.7 μg/L. Creșterea concentrației extractului a corelat cu diminuarea viabilității tumorale (r_s=-0.90, p=0.000).

Importanța concentrației extractantului a fost susținută prin stabilirea asocierilor negative, dintre concentrația etanolului utilizat în experiment și viabilitatea tumorii (r_s=-0.30, p=0.004).

La compararea tuturor extractelor și substanțelor de referință în cazul glioblastomului U-251 MG am stabilit că, cea mai pronunțată activitate antitumorală asupra celulelor U-251 MG au manifestat extractele foliare pe etanol de 50% la concentrația de 150,000 μg/L (36.6%, DS – 4.92, 95% Î: 26.96-46.24) și etanol de 80% la concentrația de 40,000 μg/L (44.98%, DS – 5.21, 95% Î: 34.77-55.19). Deși aparent similare, aceste rezultate au fost statistic diferite (p=0.0003).

La aranjarea extractelor și substanțelor de referință după activitatea antitumorală (concentrație – viabilitate) am stabilit, că Doxo este al 12-ea, după extractele din TO: FEtOH50

(150,000 $\mu\text{g/L}$ – 36.60%) – FEtOH80 (40,000 $\mu\text{g/L}$ – 44.98%) – REtOH80 (50,000 $\mu\text{g/L}$ – 48.61%) – FEtOH80 (320 $\mu\text{g/L}$ – 51.75%) – FEtOH80 (8,000 $\mu\text{g/L}$ – 51.90%) – FEtOH80 (1,600 $\mu\text{g/L}$ – 52.55%) – FEtOH80 (64 $\mu\text{g/L}$ – 53.73%) – FDMSO (110,000 $\mu\text{g/L}$ – 58.85%) – FDMSO (22,000 $\mu\text{g/L}$ – 68.80%) – FEtOH80 (12,8 $\mu\text{g/L}$ – 69.02%) – REtOH80 (10,000 $\mu\text{g/L}$ – 69.26%) – Doxo100 (100,000 $\mu\text{g/L}$ – 70.61%). Cea mai puțin activă soluție în cazul acestui tip de tumori au fost extractele din rădăcini pe DMSO la concentrațiile de 9.28 $\mu\text{g/L}$ (96.22%) și 1.86 $\mu\text{g/L}$ (97.40%).

La compararea valorilor IC_{50} am stabilit că, cea mai mică doză medie inhibitoare a fost în cazul extractului foliar pe etanol de 80% (4.36 $\mu\text{g/L}$), iar cea mai înaltă în cazul extractului din frunze pe etanol de 50% (70.99 $\mu\text{g/L}$).

Metoda cu Resazurină

Acțiunea Doxo este relevată în datele din tabelul 5. Viabilitatea celulelor tumorale a diminuat cel mai pronunțat (59.52%, DS –5.92 , 95% ÎÎ: 47.92-71.12) la utilizarea Doxo de cea mai înaltă concentrație. Doza medie inhibitoare a constituit 83.05 $\mu\text{g/L}$. Viabilitatea tumorii a diminuat odată cu creșterea concentrației medicamentului ($r_s=-0.80$, $p=0.000$).

Acțiunea TOF. O diminuare drastică a viabilității celulelor tumorale s-a atestat la utilizarea extractului foliar pe DMSO, la concentrația de 110,000 $\mu\text{g/L}$ (6.15%, DS – 1.69, 95% ÎÎ: 2.84-9.46) (tabelul 5). Diminuarea concentrației extractului s-a soldat cu creșterea viabilității tumorii, fapt susținut statistic ($r_s=-0.95$, $p=0.000$). Valoarea IC_{50} pentru acest extract a echivalat cu 26,156 $\mu\text{g/L}$.

În cazul extractului din frunze pe etanol de 20%, cea mai pronunțată inhibare a viabilității tumorale s-a determinat la concentrația de 140,000 $\mu\text{g/L}$ (54.95%, DS – 8.43, 95% ÎÎ: 38.43-71.47) (tabelul 6). Creșterea concentrației extractului a condus la diminuarea viabilității celulelor studiate ($r_s=-0.91$, $p=0.000$). Concentrația medie inhibitoare a fost egală cu 5,169 $\mu\text{g/L}$.

La utilizarea extractului foliar pe etanol de 50%, viabilitatea a circa 20% din celule (79.96 \pm 0%) a fost inhibată la concentrația de 150,000 $\mu\text{g/L}$. Odată cu creșterea concentrației extractului viabilitatea a diminuat, fapt susținut prin eseu de corelație ($r_s=-0.77$, $p=0.000$). Doza medie inhibitoare a echivalat cu 3,050 $\mu\text{g/L}$.

Pentru extractul din frunze pe etanol de 80%, cea mai pronunțată acțiune antitumorală s-a determinat la concentrația de 40,000 $\mu\text{g/L}$, viabilitatea celulelor diminuând la 26.39% (DS – 5.33, 95% ÎÎ: 15.94-36.84). Acțiunea în cauză a prezentat o asociere inversă doză – efect, susținută prin eseu de corelație ($r_s=-0.91$, $p=0.000$).

Creșterea concentrației etanolului a avut un efect semnificativ, negativ asupra viabilității celulare ($r_s=-0.28$, $p=0.03$).

Tabelul 5. Viabilitatea celulelor U-251 MG evaluată prin testul cu Resazurină după incubare cu Doxo, extractele foliare și radiculare ale TO pe DMSO.

Doxo100		FDMSO		RDMSO	
C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %
	X±DS		X±DS		X±DS
100,000	59.52±5.92	110,000	6.15±1.69	145,000	16.42±6.36
20,000	62.98±1.38	22,000	57.72±9.02	29,000	34.64±1.15
4,000	61.45±7.58	4,400	83.31±2.6	5,800	66.84±9.88
800	63.37±9.96	880	85.52±0.51	1,160	81.15±0.31
160	72.06±3.3	176	84.26±0.1	232	83.08±0.98
32	78.63±7.47	35.2	87.78±1.57	46.4	84.72±4.32
6.4	80.03±5.28	7.04	88.55±2.61	9.28	89.44±0.31
1.28	87.74±1.28	1.408	90.98±1.28	1.856	94.01±3.74
LogIC ₅₀	1.919 μg/L	LogIC ₅₀	4.418 μg/L	LogIC ₅₀	3.929 μg/L
IC ₅₀	83.05 μg/L	IC ₅₀	26156 μg/L	IC ₅₀	8499 μg/L
R ²	0.77		0.97		0.95
r _s	-0.80		-0.95		-0.98
p	0.000		0.000		0.000

Notă: Doxo100 – concentrația Doxo; FDMSO – extract pe DMSO din frunze de TO; RDMSO – extract din rădăcini de TO pe DMSO, C – concentrația compușilor testați (μg/L).

Tabelul 6. Acțiunea extractelor etanolice din frunze de TO asupra viabilității celulelor tumorale U-251 MG evaluată prin metoda cu Resazurină.

FEtOH20		FEtOH50		FEtOH80	
C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %
	X±DS		X±DS		X±DS
140,000	54.95±8.43	150,000	79.96±0	40,000	26.39±5.33
28,000	76.48±4.93	30,000	88.02±2.3	8,000	75.19±2.08
5,600	85±1.46	6,000	84.83±1.85	1,600	78.71±2.42
1,120	85.08±2.78	1,200	88.69±5.33	320	81.15±2.77
224	82.59±1.67	240	97.76±0.77	64	80.29±0.98
44.8	86.94±0.39	48	95.11±1.29	12.8	84.91±4.93
8.96	94.9±2.82	96	97.67±0.94	2.56	85.17±1.89
1.792	99.74±0	1.92	96.71±0.93	0.512	85.97±0.65
LogIC ₅₀	3.713 μg/L	LogIC ₅₀	3.484 μg/L	LogIC ₅₀	4.062 μg/L
IC ₅₀	5169 μg/L	IC ₅₀	3050 μg/L	IC ₅₀	11547 μg/L
R ²	0.74		0.79		0.95
r _s	-0.91		-0.77		-0.91
p	0.000		0.000		0.000

Notă: FEtOH20, 50, 80 – extractele din TO pe etanol de 20, 50 și 80%; C – concentrația compușilor testați (μg/L).

Acțiunea TOR. În cazul extractelor din rădăcini pe DMSO, cea mai pronunțată supresie a viabilității celulare s-a atestat la concentrația extractului de 145,000 $\mu\text{g/L}$ (16.42%, DS – 6.36, 95% Î: 3.95-28.89). Doza medie inhibitoare a fost echivalentă cu 8,499 $\mu\text{g/L}$. Creșterea concentrației extractului radicular a corelat într-o manieră inversă cu viabilitatea celulară ($r_s = -0.98$, $p = 0.000$).

La utilizarea extractelor radiculare pe etanol de 20%, inhibarea cea mai marcantă a viabilității tumorale s-a determinat nu la concentrația maximă, de 95,000 $\mu\text{g/L}$ (65.32%, DS – 2.34, 95% Î: 60.73-69.91), însă la diluția a doua, echivalentă cu 19,000 $\mu\text{g/L}$ (58.34%, DS – 0.04, 95% Î: 58.26-58.42) (tabelul 7).

Tabelul 7. Acțiunea extractelor etanolice din rădăcini de TO asupra viabilității celulelor U-251 MG determinată prin metoda cu Resazurină.

REtOH20		REtOH50		REtOH80	
C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %	C	Viabilitatea %
	X \pm DS		X \pm DS		X \pm DS
95,000	65.32 \pm 2.34	60,000	16.61 \pm 1.1	50,000	37.6 \pm 1.82
19,000	58.34 \pm 0.04	12,000	70.55 \pm 2.83	10,000	61.59 \pm 3.83
3,800	60.76 \pm 0.17	2,400	74.34 \pm 1.35	2,000	68.84 \pm 3.92
760	64.97 \pm 0.14	480	77.95 \pm 2.98	400	74.23 \pm 2.47
512	68.09 \pm 0.38	96	75.38 \pm 3.24	80	76.89 \pm 1.42
30.4	68.1 \pm 0.33	19.2	76.67 \pm 6.48	16	83.75 \pm 6.1
6.08	73.78 \pm 2.82	3.84	86.41 \pm 1.46	3.2	79.33 \pm 1.65
1.216	86.66 \pm 0.09	0.768	97.29 \pm 0.91	0.64	86.03 \pm 0.19
LogIC ₅₀	1.448 $\mu\text{g/L}$	LogIC ₅₀	4.234 $\mu\text{g/L}$	LogIC ₅₀	3.579 $\mu\text{g/L}$
IC ₅₀	28.07 $\mu\text{g/L}$	IC ₅₀	17132 $\mu\text{g/L}$	IC ₅₀	3792 $\mu\text{g/L}$
R ²	0.78		0.66		0.87
r _s	-0.88		-0.86		-0.95
p	0.000		0.000		0.000

Notă: REtOH20, 50, 80 – extractele din rădăcini de TO pe etanol de 20, 50 și 80%; C – concentrația compușilor testați ($\mu\text{g/L}$).

Testul de corelare a pus în evidență asocieri negative, statistic semnificative dintre concentrația extractului și viabilitatea tumorii ($r_s = -0.88$, $p = 0.000$). Concentrația medie inhibitoare a egalat cu 28.07 $\mu\text{g/L}$.

În cazul extractului realizat în etanol de 50%, cea mai pronunțată inhibare a viabilității tumorale s-a determinat la concentrația de 60,000 $\mu\text{g/L}$ (10.83%, DS – 2.85, 95% Î: 5.24-16.42). Viabilitatea a prezentat asocieri negative, statistic semnificative cu concentrația extractului ($r_s = -0.86$, $p = 0.000$). Doza medie inhibitoare a fost echivalentul a 17,132 $\mu\text{g/L}$.

La utilizarea etanolului de 80% în calitate de extractant, am determinat că cea mai pronunțată supresie a viabilității tumorale are loc la utilizarea concentrației de 50,000 $\mu\text{g/L}$ (37.6%, DS – 1.82, 95% Î: 34.03-41.17). Eseul statistic de corelare a pus în evidență asocieri negative, veridice dintre concentrația extractului utilizat și viabilitatea tumorii ($r_s=-0.95$, $p=0.000$). Concentrația medie inhibitoare a constituit 3,792 $\mu\text{g/L}$.

Concentrația etanolului utilizat în calitate de extractant s-a dovedit a fi importantă, determinând asocieri pozitive, statistic veridice cu viabilitatea tumorii ($r_s=0.24$, $p=0.05$).

Compararea tuturor extractelor și substanțelor de referință. Datorită acestui eseu de comparare am determinat că, supresia cea mai pronunțată a viabilității celulelor U-251 MG o are extractul foliar pe DMSO. În prima zecime, cu cea mai promițătoare acțiune antitumorală au intrat (concentrația – viabilitatea medie): FDMSO (110,000 $\mu\text{g/L}$ – 6.15%) – REtOH50 (60,000 $\mu\text{g/L}$ – 10.83%) – RDMSO (145,000 $\mu\text{g/L}$ – 16.42%) – FEtOH80 (40,000 $\mu\text{g/L}$ – 26.39%) – RDMSO (29,000 $\mu\text{g/L}$ – 34.64%) – REtOH80 (50,000 $\mu\text{g/L}$ – 37.6%) – FEtOH20 (140,000 $\mu\text{g/L}$ – 54.95%) – FDMSO (22,000 $\mu\text{g/L}$ – 57.72%) – REtOH20 (19,000 $\mu\text{g/L}$ – 58.34%) – DOXO100 (10^5 $\mu\text{g/L}$ – 59.52%). Cel mai puțin au supresat viabilitatea concentrațiile mici ale extractelor foliare de 20% (1.792 $\mu\text{g/L}$ – 99.74%) și 50% (240 $\mu\text{g/L}$ – 97.76%).

La compararea valorilor IC_{50} s-a determinat că, cea mai mică concentrație medie inhibitoare a viabilității tumorale este cea a extractului radicular pe etanol de 20% (28.07 $\mu\text{g/L}$), iar cea mai înaltă, în cazul extractului foliar pe DMSO (26,156 $\mu\text{g/L}$).

Analiza comparativă a viabilității celulelor tumorale U-251 MG, examinate cu testul MTT vs Resazurină. Viabilitatea celulelor U-251 MG a fost diferită în cazul Doxo100 ($p=0.01$), RDMSO ($p=0.02$), REtOH20 ($p=0.001$) și REtOH50 ($p=0.001$). Nu au fost determinate diferențe statistic veridice în cazul FDMSO ($p=0.34$), FEtOH20 ($p=0.40$), FEtOH50 ($p=0.29$), FEtOH80 ($p=0.25$) și REtOH80 ($p=0.25$).

Astfel, s-a stabilit că cea mai pronunțată acțiune antitumorală au exercitat extractele foliare pe DMSO, la concentrația de 110,000 $\mu\text{g/L}$ și cele radiculare pe etanol de 50% (150,000 $\mu\text{g/L}$) și 80% la concentrația de 50,000 $\mu\text{g/L}$.

Viabilitatea celulelor tumorale în funcție de componența extractelor TO. Impactul asupra viabilității celulelor U-251 MG, analizată prin metoda MTT a fost cel mai promițător (36.6%) la utilizarea extractului din frunze pe etanol de 50%, la combinația: CTP – $57,000 \times 10^{-6}$ mg/mL, AC – $8,460 \times 10^{-6}$ mg/mL, ACh – $52,500 \times 10^{-6}$ mg/mL, ACG – $1,746 \times 10^{-6}$ mg/mL, Ahx – $73,200 \times 10^{-6}$ mg/mL, CTF – $9,450 \times 10^{-6}$ mg/mL, Fts – $3,765 \times 10^{-6}$ mg/mL (tabelul A22.26). Cel mai puțin efectiv (97.4%) s-a dovedit a fi extractul din rădăcini pe DMSO, cu următoarea componență: CTP – 0.1×10^{-6} mg/mL, AC – 0.002×10^{-6} mg/mL, ACh – 0.01×10^{-6} mg/mL, ACG

– 0.002×10^{-6} mg/mL, Ahx – 0.02×10^{-6} mg/mL, CTF – 0.01×10^{-6} mg/mL, Fts – 0.01×10^{-6} mg/mL.

Cel mai efectiv în cazul celulelor U-251 MG evaluate prin metoda cu Resazurină au fost frunzele supuse extracției pe DMSO, la următoarea concentrație a compușilor: CTP – $15,268 \times 10^{-6}$ mg/mL, AC – $1,628 \times 10^{-6}$ mg/mL, ACh – 8976×10^{-6} mg/mL, ACG – 316.8×10^{-6} mg/mL, Ahx – $12,540 \times 10^{-6}$ mg/mL, CTF – 550×10^{-6} mg/mL, Fts – 418×10^{-6} mg/mL (tabelul A22.26). Viabilitatea acestor celule a fost mai puțin afectată în cazul extractului foliar pe etanol de 20%, cu componența: CTP – 0.6×10^{-6} mg/mL, AC – 0.09×10^{-6} mg/mL, ACh – 0.4×10^{-6} mg/mL, ACG – 0.02×10^{-6} mg/mL, Ahx – 0.6×10^{-6} mg/mL, CTF – 0.1×10^{-6} mg/mL, Fts – 0.02×10^{-6} mg/mL.

6.3 Studiul comparativ al acțiunii antitumorale a extractelor din *Taraxacum officinale*. Glioblastomul reprezintă o tumoare malignă a țesutului nervos, care necesită un tratament multidisciplinar, unde procedurile chirurgicale sunt asociate cu radioterapia și Termozolomidul [198]. Adăugarea Bevacizumabului nu a crescut rata de supraviețuire. Astfel, în pofida procedurilor contemporane de diagnostic și tratament, la majoritatea pacienților se atestă progresia bolii, însoțită cu o rată înaltă a mortalității.

În literatura de specialitate se atestă o relatare în creștere a metodelor de prevenire și tratament a tumorilor utilizând produse de origine vegetală. Există un șir de evidențe că extractele din TO posedă activitate antitumorală.

Conform datelor prezentate de Jung *et al.* (2015) TO posedă activitate antitumorală, iar cea mai puternică acțiune supresivă a celulelor HepG2 a fost determinată în cazul extractului hidric din rădăcini (54.6%) [155]. O altă evidență despre acțiunea TO asupra celulelor HepG2 a fost prezentată de Koo *et al.* (2004), în care extractul hidric a redus viabilitatea celulelor la 26% [104]. Autorii au determinat că, TO acționează într-o manieră dependentă de timp și doză: secreția maximală de IL-1 (66 ± 1.7 pg/mL) și TNF- α (186 ± 2.0 pg/mL), urmată de apoptoză a fost determinată la 0.2 mg/mL după 48 ore de incubare. O altă evidență despre acțiunea TO asupra citokinelor a fost raportată de Kim *et al.* (1999) care au depistat că, extractele din această plantă stimulează secreția de TNF- α , fenomen cuplat și în creșterea producerii de NO [105].

În opinia lui Takasaki *et al.* (1999) activitatea antitumorală a TO se datorează conținutului înalt de triterpene și sesquiterpene [96]. Autorii consideră că, componentele bioactive ai speciei *Taraxacum*, în special taraxasterolul și taraxerolul, posedă capacitatea de a influența carcinogeneza la diverse stadii, inclusiv inițiere și metastazare, astfel dezvoltând ideia utilizării acestora în calitate de agenți chemopreventivi. Ovesna *et al.* (2004) au atribuit această funcție taraxasterolului și beta-sitosterolului [97].

Spectrul compușilor antitumorali ai TO pare să fie mult mai vast. Ovadje *et al.* (2016) au identificat 4 componenți activi, α -amirin, β -amirin, lupeol și taraxasterolul, care în combinație au prezentat acțiuni promițătoare, comparativ cu administrarea solitară. Aceste date vin în susținerea rezultatelor noastre, care au definit că, acțiunea antitumorală a TO nu depinde de concentrația maximă a compușilor, ci de raportul acestora.

O altă evidență despre eficacitatea antitumorală a TO a fost raportată de Hata *et al.* (2006), care au constatat că lupeolul din TO a blocat efectiv migrarea celulară în cazul melanomului B162F2 și neuroblastomului [98]. Mecanismul de acțiune a constat în dezasamblarea miofilamentelor de actină. Într-un alt studiu, luteolul extras din *Bombax ceiba* a manifestat activitate antiangiogenică înaltă [199]. Cel mai promițător efect inhibitor asupra celulelor endoteliale a fost determinat la concentrația de 30 și 50 $\mu\text{g/mL}$. Ulterior, Jeon *et al.* (2008) au raportat că, extractele etanolice din frunze și flori posedă activitate antiangiogenică, fapt care ar permite utilizarea TO în chimioterapie sau chimioprolifaxie [57]. Această activitate, în opinia autorilor se datorează flavonilor.

Alți componenți ai TO, precum acizii caffeic și clorogenic au prezentat acțiuni promițătoare în cazul cancerului metastatic [200]. Acidul taraxinic izolat din TO a demonstrat acțiuni antiproliferative în cazul celulelor HL-60 [103]. Apigenina, conform lui Erdogan *et al.* (2016) a redus viabilitatea și migrația celulelor stem canceroase de prostată prin supresia PI3K/Akt/NF- κ B [201]. Despre eficacitatea TO în blocarea metastazării tumorilor vorbesc și datele prezentate de Goldberg *et al.* (2007), care indică la utilizarea extractelor apoase în cazul cancerului pulmonar (Lewis) [107]. Ulterior, această eficacitate a fost atribuită carbohidraților din TO, în special lentinanului [108].

Studiul nostru susține ideea că, concentrația extractului și deci a compușilor bioactivi este importantă, însă dozajul înalt nu înseamnă și cel mai promițător efect antitumoral. În plus, un rol determinant îl are tipul extractantului, concentrația acestuia și organul anatomic a plantei. Astfel cel mai bun efect supresiv a fost determinat în cazul extractului radicular pe etanol de 80% la concentrația TO de 50,000 $\mu\text{g/L}$, în timp ce rădăcinile și frunzele supuse extracției pe etanol de 50%, unde s-a atestat ulterior cea mai mare concentrație de compuși bioactivi, au prezentat valori inhibitorii mult mai discrete.

Mecanismul antitumoral al TO însă pare a fi mult mai complex. Ovadje *et al.* (2016) au determinat în cazul clonelor tumorale HT-29 și NCM460 o diminuare a potențialului membranar mitocondrial și creșterea concentrației SRO [202]. Destabilizarea membranelor mitocondriale s-a asociat cu activarea caspazei-8. Totodată, autorii au determinat că acțiunea TO depinde și de tipul tumorii: în celulele HT-29 extractul din TO a inhibat genele antiapoptotice BCL2,

GALNT5 (*Polypeptide N-Acetylgalactosaminyltransferase 5*) și PARP-2, iar în celulele NCM460 aceleași gene au fost stimulate. Invers, genele și citokinele proapoptotice CASP1, IFNG (interferon gamma) și TNF au fost stimulate în cazul HT-29, și blocate în celulele NCM460. Despre acțiunea selectivă a părților componente din TO vorbesc și rezultatele prezentate de Sigstedt *et al.* (2008), care indică că, rădăcinile sunt mai efective în cazul tumorilor mamare MCF-7/AZ, iar frunzele în culturile de cancer prostatic LNCaP [109]. În opinia autorilor, TO acționează prin intermediul ERK kinazelor, diminuând FAC și SRC (*non-receptor tyrosine kinase*), totodată inhibând activitatea MMP-2 și MMP-9 (*matrix metalloproteinases*). Datele rezultate din studiul nostru confirmă acțiunea selectivă a TO asupra celulelor tumorale și în cazul tipurilor de gliom.

Chatterjee *et al.* (2011) au determinat că, extractul radicular din TO a indus apoptoza selectiv în celulele melanomului A375, fără a afecta celulele normale [203]. Autorii au observat morfologia caracteristică apoptozei după 48 ore de incubare, iar acțiunea în cauză s-a produs prin activarea caspazei-8.

O altă evidență despre activitatea antitumorală a TO a fost prezentată de Ovadje *et al.* (2016) în cazul utilizării extractului radicular hidric de TO la tumorile de colon HT-29 (p53^{-/-}) și HCT116 (p53 WT) [202]. Autorii au concluzionat că, activarea caspazei-8 nu este mecanismul esențial prin care TO supresează tumorile. În opinia autorilor TO posedă acțiune țintită asupra defectelor metabolice existente în tumori. Mai mult, în cazul celulelor HT-29, TO a stimulat genele CASP1 (*caspase 1*), KCNIP1 (*encodes potassium voltage-gated channel interacting protein 1*), SNCA (*alpha synuclein*), TNF, și un șir de receptori precum TNFRSF1A sau TNFRSF11B (*tumor necrosis factor superfamily, member 1A and 11B*) responsabili de activitatea proapoptotică. Totodată a fost raportat blocarea genelor responsabile de supraviețuirea celulelor, precum BCL2, BCL2A1 (*BCL2 Related Protein A1*) și PARP2 (*Poly(ADP-Ribose) Polymerase 2*).

De asemenea, extractele din TO au diminuat conținutul nuclear de GRB2 (*Growth Factor Receptor 2-Related Protein*), ERK1/2 (*Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase*) și crescut concentrația plasmatică de ERK1/2 [202]. TO selectiv a diminuat și expresia COX-2 în tumorile de colon. Astfel sumarizând, putem afirma că, TO are ca țintă diverși compuși, implicându-se activ la diverse stadii ale apoptozei.

Despre spectrul antitumoral vast al TO vorbesc rezultatele prezentate de Ovadje *et al.* (2011), care au descris inducerea apoptozei în celulele maligne în cazul leucemiei [101]. Autorii au relatat că, anume extractele de concentrație joasă, exact ca și în studiul nostru, au fost capabile să inducă țintit apoptoza în celulele T maligne, fără a afecta celulele sănătoase. Implicarea

componentelor TO în apoptoză a fost susținută și de Hueber *et al.* (2000) care au depistat că, celule FADD-negative (*Fas-associated death domain*) nu dezvoltă complexul DISC (*death-inducing signaling complex*), absolut necesar pentru declanșarea morții programate [102].

Posibilitatea utilizării extractelor din TO în cazul tumorilor gliale a fost raportată de Kim *et al.* (2000) [106]. Extractele din TO la concentrația de 100 și 1000 $\mu\text{g/mL}$ au inhibat efectiv producerea de IL-1 și TNF- α în astrocite. Aceste date sunt susținute de rezultatele noastre care subliniază eficacitatea TO în tumorile gliale în special la concentrații minime (50 $\mu\text{g/mL}$) [204]. Recent, Rashidi *et al.* (2022) au stabilit că, extractele etanolicе din TO au blocat efectiv migrația și potențialul invaziv al glioblastomului [205]. În calitate de mecanism de acțiune, autorii au descris inhibarea enzimelor proteolitice (MMP-2, MMP-9, uPA), prin blocarea căii de semnalizare p38MAPK – SAPK/JNK. Totodată autorii au semnalat și efectul stimulatив al TO asupra TIMP1 și TIMP2, care reprezintă inhibitori endogeni ai enzimelor proteolitice.

TO s-a dovedit a fi efectiv nu doar la utilizare solitară, dar și ca tratament adjuvant. Yoon *et al.* (2016) au selectat TO ca cea mai promițătoare plantă (din 500) în tratamentul TRAIL (*TNF-related apoptosis inducing ligand*) [111]. Utilizarea combinată cu TO a indus apoptoza în culturile celulare Huh7, rezistente inițial la TRAIL. Autorii au explicat că, TO poate inhiba interacțiunea MKK7-TIPRL și activa fosforilarea MKK7-JNK, iar principalul component implicat este acidul cicoric, conținut după datele noastre din abundență în frunzele de TO.

Un alt mecanism de acțiune a TO a fost descris de Gerbino *et al.* (2018), care au relatat trecerea masivă a ionilor de Ca^{2+} din reticulul sarcoplasmatic în plasmalema celulelor tumorale HEK293 (*human embryonic kidney*) sub influența extractelor radiculare pe etanol [112].

În concluzie, putem afirma că *Taraxacum officinale* posedă activitate antitumorală, manifestată prin inhibiția viabilității glioblastomului U-251 MG. Activitatea antitumorală a TO este în funcție de partea componentă a plantei, tipul și concentrația extractantului. În cazul celulelor U-251 MG cele mai active au fost extractele foliare pe etanol de 50% la concentrația de 150,000 $\mu\text{g/L}$. În cazul celulelor U-251 MG cea mai mică concentrație medie inhibitoare este necesară la utilizarea extractului foliar pe etanol de 80% (4.36 $\mu\text{g/L}$), iar cea mai înaltă în cazul extractului din frunze pe etanol de 50% (70.99 $\mu\text{g/L}$). Creșterea concentrației etanolului în extractele foliare și radiculare a corelat cu diminuarea viabilității celulelor tumorale.

În cazul testului cu Resazurină, cea mai promițătoare acțiune antitumorală anti-U-251 MG a fost determinată în cazul extractelor foliare pe DMSO și radiculare pe etanol de concentrație înaltă. Cea mai mică concentrație medie inhibitoare a viabilității celulelor U-251 MG s-a determinat la utilizarea extractului radicular pe etanol de 20% (28.07 $\mu\text{g/L}$), iar cea mai înaltă, în cazul extractului foliar pe DMSO (26,156 $\mu\text{g/L}$). Creșterea concentrației etanolului în extractele

foliare a condus la diminuarea viabilității tumorale. În cazul extractelor radiculare creșterea concentrației etanolului în extract a corelat cu sporirea viabilității tumorale. Rezultatele testelor metabolice depind de tipul de celule studiate, de tipul extractului, de partea plantei și de tipul metodei. Toate organele anatomice ale TO posedă acțiune antitumorală, cele mai promițătoare rezultate însă le au frunzele și rădăcinile la extragere în DMSO și alcool etilic de concentrație înaltă.

SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Bine, ”s-o luăm de la capăt, căci natura face asta în fiecare an”, spune un citat de V.Butulescu. Natura, ca întotdeauna binevoitoare, susține omenirea, chiar și în cele mai triste situații, iar noi nu avem altceva, decât să învățăm.

Plantele reprezintă o verigă cheie în circuitul vital, fiind materia primă de bază în multiple ramuri ale industriei, inclusiv farmaceutică. Obținerea de noi medicamente este absolut necesară pentru supraviețuirea omenirii, iar dezvoltarea de agenți chimici cu efecte modulatorii asupra unui proces biochimic ține de domeniul abstractului. Totuși natura oferă exemple care transformă visul în realitate. Un astfel de exemplu poate fi considerat TO.

Efectele TO asupra diverselor procese biochimice au fost descrise în literatura de specialitate în relație cu extractul utilizat, comparând acțiunile după organul plantei, tipul extractantului, metoda de extragere etc. În studiul nostru am efectuat o analiză simultană a acțiunilor TO, luând în vedere tipul extractantului și concentrația acestuia, organele plantei, concentrația compușilor chimici și acțiunile exercitate.

Conform opiniilor contemporane, fenolilor le sunt atribuite mai multe funcții, cum ar fi antiinflamatorii, antibacteriene, antitumorale *etc.* [206] Exercițarea acestor acțiuni se datorează prezenței în structura lor a inelelor aromatice cuplate cu grupele hidroxil. Conform datelor literaturii, concentrația acestor compuși este direct proporțională cu acțiunea exercitată. Drept exemplu, Xue *et al.* (2017) indică că acțiunea antioxidantă în cazul extractelor din frunze este mai mare comparativ cu alte organe ale plantei, și acest fapt este datorat conținutului mare de CTP în frunze [137]. Totodată autorii au diminuat rolul flavonoizilor, grație faptului că nu au fost stabilite diferențe statistic veridice dintre organele plantei. Aceste date susțin opinia lansată de Rice-Evans *et al.* (1996), conform căreia acizii hidroxicinamici au o activitate mai înaltă comparativ cu acizii hidroxifenilacetici și hidroxibenzoici grație grupului acrilat cuplat la inelul fenilic [207].

Xue *et al.* (2017) consideră că anume conținutului sporit de acizi fenolici, precum cicoric și clorogenic, se datorează înțâetatea frunzelor în calitate de remediu antioxidant. Rezultatele studiului nostru susțin faptul că frunzele sunt mai bogate în acizi fenolici, iar cel mai înalt conținut poate fi atins la utilizarea etanolului de 50%, extractant valabil și în cazul rădăcinilor. Trebuie de subliniat că, conținutul fenolilor, maximal sau minimal nu a coincis cu o activitate similară. Astfel în cazul sistemului antioxidant enzimatic am stabilit că, cel mai înalt conținut de CTP (38 mg/mL), precum și CTF (6.3 mg/mL), fitosteroli (2.51 mg/mL) a corelat cu diminuarea drastică a GPx, iar cele mai mici valori (CTP – 2 mg/mL) au fost asociate cu activarea CAT. În aceeași ordine de idei am prezentat și activitatea antiradicalică a TO, măsurată prin metoda cu

ABTS, unde concentrațiile medii a compușilor din extractele din rădăcini pe etanol de 50% au prezentat cele mai promițătoare rezultate (91.65 – 91.76%). Aceste rezultate confirmă datele prezentate de Ivanov *et al.* (2014), care atestă extractul pe etanol de 50% drept cel mai efectiv antioxidant, acțiune datorată în opinia autorilor conținutului înalt de CTP [141]. Importanța alegerii extractantului a fost relevată și de Petkova *et al.* (2015), care au subliniat că, cele mai înalte concentrații de CTP și cele mai promițătoare acțiuni fiind determinate în cazul extractelor combinate, inițial pe etanol de 95%, urmate de extragere pe apă [135].

Acizii clorogenici, reprezintă esterii acizilor caffeic și quinic. În prezent acestor acizi le sunt atribuite diverse funcții, precum spasmolitică, antivirală, antioxidantă și antitumorală [208]. Una din caracteristicile chimice ale acestor acizi este instabilitatea, caracterizată prin formarea (hidrolizare, izomerizare, esterificare, etc.) de alți compuși, chiar în procesul de extracție. În general, există opinia că, acizii clorogenici (în special monoclorogenici) sunt mai bine supuși extracției în soluții hidro-alcoolice slabe, fiind insolubili în cloroform, benzen și eter. În cazul nostru însă, cel mai înalt conținut s-a atestat în extractul etanolic de 50%. Nu există opinie unanimă despre funcția antioxidantă a acestor acizi. Astfel Kweon *et al.* (2001) consideră că acești acizi inhibă formarea de specii reactive de oxigen [209]. Totodată există opinia că, acești acizi pot manifesta atât activitate antioxidantă, cât și prooxidantă, efect care depinde de concentrația acestora, statusul lor redox și prezența ionilor de metal liberi (free transition metal ions) [210]. În cazul nostru, conținutul înalt de acizi clorogenici a coincis cu activitate joasă a GPx și medie a SOD, CAT, GST și GR. În cazul indicilor SO conținutul mare de acizi clorogenici au provocat creșterea valorilor DAM, eNOS, NO_2^- și NO_3^- .

Acidul cicoric, care în studiul nostru a înregistrat cele mai înalte valori cantitative din cadrul CTP, este bine cunoscut grație acțiunilor sale antioxidative. După Li *et al.* (2020), acest acid este capabil de a diminua valorile serice ale AST, ALT, SRO și crește cantitatea de GSH [211]. Conform rezultatelor noastre, concentrațiile înalte de acid cicoric au stimulat creșterea activității SOD, CAT, GST, GR și au diminuat activitatea GPx. În cazul SO sub influența acestui acid au crescut valorile DAM, eNOS, NO_2^- și NO_3^- . În cazul homeostaziei tiol-disulfidice concentrațiile maxime de acid cicoric au corelat cu valori medii ai indicilor studiați. Dimpotrivă, concentrațiile mici au dus la creșterea tuturor indicilor, inclusiv GSH și GSSG. Acest fapt poate fi lămurit prin cumularea acțiunii a tuturor compușilor existenți în TO.

TO posedă funcție de protecție prin neutralizarea radicalilor liberi, efect datorat conform unor evidențe acizilor fenolici. Park *et al.* (2011) consideră că, luteolina și acidul clorogenic din TO sunt cauza inhibiției producerii de oxid nitric și a SO [51]. În cazul studiului nostru am determinat că, cel mai mic conținut de NO_2^- și NO_3^- corespund cu valorile mici și medii a

compușilor studiați. Mai mult, la aceste cantități s-a determinat și cea mai înaltă activitate a DAM. Doar activitatea eNOS a fost cel mai mult stimulată de concentrația înaltă a compușilor, deși valori apropiate au fost determinate și la cantități mai mici ale CTP, CTF...

După Ziamajidi *et al.* (2013) acidul cicoric este unul din componentele esențiale capabil de a lupta cu SO, prevenind sau tratând steatoza hepatică [212]. Conform datelor prezentate de Xue *et al.* (2017), 20 $\mu\text{g/mL}$ de acid cicoric sunt suficiente pentru a inhiba creșterea speciilor reactive de oxigen [137]. Aceste date sunt susținute de rezultatele studiului nostru: cea mai înaltă activitate (92%) antiradicalică a fost determinată la concentrația acidului cicoric 0.2 – 0.4 mg/mL . Însă trebuie de menționat că, această concentrație a fost una minimală, maximal fiind atestate 6.56 mg/mL cu o activitate de doar 39.1%.

În literatura de specialitate este menționat că, extractele din TO posedă acțiune antitumorală. Takasaki *et al.* (1999) au prezentat TO în calitate de un remediu efectiv în cazul tumorilor de piele [96]. La acel moment autorii au considerat că, aceste acțiuni sunt realizate grație triterpenozilor și sesquiterpenelor. Sigstedt *et al.* (2008) însă au contestat aceasta, prin faptul că compușii în cauză sunt prezenți și în rădăcini, care s-au dovedit a fi neefective în cazul diferitor tipuri de tumori, lansând ipoteza că frunzele sunt efective grație conținutului sporit de CTP și CTF [109]. Conform datelor lui Xue *et al.* (2017) 400 $\mu\text{g/mL}$ de extract foliar de TO s-au remarcat printr-o activitate semnificativă inhibând translocarea nucleară a p65 NF-kB [137]. Conform datelor lui Wang *et al.* (2009) activarea a NF-kB inițiază transcripția genelor proinflamatorii, cu formarea de IL-1 β și COX-2, niveluri sporite ale cărora au fost determinate în diverse patologii inflamatorii și tumori [64]. În baza datelor publicate de Lee *et al.* (2015), reese că acidul cicoric poate bloca activarea a p65, astfel diminuând formarea de COX-2 [213]. În cazul studiului nostru cel mai efectiv a suprimat viabilitatea celulelor U-251 MG extractul unde acidul cicoric a atins cote maxime la extracție ($52,500 \times 10^{-6}$ mg/mL). Despre acțiunea selectivă a TO vorbesc și rezultatele expuse de Sigstedt *et al.* (2008), care afirmă că extractul hidric din frunze a inhibat efectiv creșterea celulelor tumorale mamare MCF-7/AZ, fiind neefective de rând cu extractele radiculare în cazul liniei celulare LNCaP C4-2B [109]. Mai mult, atât frunzele, cât și rădăcinile au inhibat efectiv procesul de metastazare a celulelor MCF-7/AZ. Această activitate TO a realizat-o prin inhibarea activității gelatinolitice a metaloproteinazelor MMP-2 și MMP-9, prin blocarea FAK și SRC. Totodată, proliferarea celulară a fost afectată prin inhibarea activității ERK, implicat direct în calea MAPK, prin care celula se diferențiază și crește.

Autofagia reprezintă un proces esențial în metabolismul celular, iar dereglările acestuia sunt asociate cu diverse patologii, inclusiv tumorile [214]. Există date elocvente că, acidul cicoric activează genele autofagiei (Atg16, Atg3 și Beclin-1), ceea ce presupune utilizarea

acestui nu numai ca agent chimioterapeutic, dar și chimiopreventiv [211]. În cazul studiului nostru, acțiunea acidului cicoric a fost una dependentă de doză: concentrațiile maxime au inhibat cel mai efectiv celulele gliale U-251 MG.

Un alt component al TO, cărui îi este atribuită și funcția antitumorală sunt fitosterolii [215]. Unul din mecanismele prin care fitosterolii pot acționa asupra celulelor tumorale, reprezintă activarea ciclului sfinngomielinic, ceea ce conduce la apoptoză. Există opinia că, acești compuși pot iniția apoptoza prin activarea caspazelor [216]. De asemenea, acești compuși, în particular sitosterolii s-au remarcat prin blocarea creșterii și metastazării tumorilor, mecanismul fiind prin încorporarea lor în membranele celulare, ceea ce duce la micșorarea conținutului de colesterol și blocarea ciclului celular în G2/M [215]. În cazul studiului nostru, acțiunea antitumorală a fitosterolilor a fost dependentă de concentrația lor (tabelul A22.26). Totuși, în cazul celulelor U-251 MG pentru inhibiția eficace a gliomului a fost necesară nu doar prezența fitosterolilor în concentrația maximală, dar și conținutul de CTP și CTF.

Datele prezentate de Popescu *et al.* (2010) descriu acțiunea TO asupra celulelor drept una modulatorie, efectul final depinzând de concentrația extractului și organul plantei: acțiune inhibitorie a mitozei a extractului apos din frunze la concentrațiile 0.66 – 2.00% și 1.00 – 2.00% în cazul extractului radicular, iar la concentrații mici (0.133%) autorii au determinat efecte stimulatorii a TO asupra mitozei [217]. În cazul efectului supresiv autorii au subliniat absența efectului citotoxic, TO afectând mitoza prin inhibarea kariokinezei. În cazul studiului nostru nu am analizat microscopic celulele după efectuarea testelor MTT și cu Resazurină, fapt care nu ne permite să afirmăm acțiunea citotoxică a TO asupra celulelor tumorale. Însă datele noastre au demonstrat că TO poate efectiv supresa viabilitatea tumorilor gliale, iar la concentrații minore a compușilor chimici studiați acțiunea antitumorală a fost una ne semnificativă.

În cadrul acestei lucrări am studiat o plantă, care deși este considerată de omenire o simplă buruiiană, oricum oferă soluții, salvează vieți, chiar și acolo unde metodele contemporane sunt ineficiente. Prin studiul componenței chimice, am stabilit că, TO reprezintă o sursă importantă de compuși bioactivi, clasificați în carotenoizi, flavonoizi, acizi fenolici, polizaharide, lactone sesquiterpene, steroli, triterpene etc. Toate acestea, singular sau în combinație au fost descrise în literatura de specialitate grație funcțiilor îndeplinite, precum antimicrobiană, antioxidantă, imunomodulatorie, antitumorală etc. Trebuie să menționăm faptul că, în cadrul studiului nostru am analizat și sumarizat mai multe acțiuni ale TO și le-am raportat cantitativ la compuși chimici prezenți în plantă.

În literatura de specialitate în componența TO au fost descriși mai mult de 100 de compuși chimici, iar în marea majoritate, studiile au fost axate pe cercetarea a unuia din compuși, atât

după concentrație, cât și a mecanismului lui de acțiune [168]. Aportul studiului nostru la datele literaturii, constă în faptul că, am determinat nu numai concentrația a unui singur compus chimic ci asocierea lor, care în concentrații mici, bine combinate rezultă cu efecte considerabile. Mai mult, aceste efecte au fost în legătură strânsă cu organele plantei, tipul și concentrația extractantului.

Un alt fapt important descris de studiul nostru, este acțiunea modulatorie a extractelor din TO. Dacă până în prezent, datele literaturii menționau doar o singură acțiune, în cadrul unui sistem, cum ar fi cel antioxidant, atunci rezultatele noastre vorbesc că în anumite condiții, ce țin de organul plantei, extractant, timpul de acțiune, TO poate manifesta efecte opuse.

Unul din mecanismele cel mai frecvent pus în evidență de cercetători în cazul TO, este cel antioxidant. Studiul nostru a pus în evidență multiplele căi de acțiune ale TO, sumarizând acțiuni stimulatorii sau inhibitorii asupra diverselor componente ale sistemului dat, integrând factori enzimatici și non-enzimatici, corelând acțiunile cu conținutul și raportul compușilor chimici.

Similar, extractele din TO s-au manifestat și în cazul celulelor tumorale studiate. Trebuie să subliniem faptul că, în anumite combinații, uneori chiar la concentrații înalte ale compușilor studiați, TO chiar dacă nu a distrus efectiv celulele maligne, cel puțin nu a manifestat acțiuni stimulatorii asupra tumorii.

În literatura de specialitate au fost descrise multiple mecanisme prin care TO exercită acțiunea antitumorală. Rezultatele noastre, datorită prezentării acțiunii asupra viabilității celulelor tumorale, sunt printre puținele evidențe despre posibilitatea utilizării extractelor din TO în terapia glioblastomului [205,218,219]. Totodată, reiterăm faptul că, datele cantitative depind de metoda utilizată, MTT sau cu Resazurină.

În concluzie, TO reprezintă o sursă promițătoare de flavonoizi, fenoli și fitosteroli. Extractele din TO supuse studiului au demonstrat implicare activă în procesele biochimice, exercitând acțiuni modulatorii. Acestea din urmă s-au exprimat prin efecte stimulatorii și inhibitorii concomitente la nivel enzimatic și de substrat. Cele mai promițătoare rezultate, depistate ca urmare a acțiunii extractelor din TO, nu corelează cu concentrația maximă a compușilor chimici, supuși studiului. Acțiunile antioxidantă, antiradicalică și antitumorală a TO depind de raportul cantitativ al flavonoizilor, fenolilor și fitosterolilor.

CONCLUZII GENERALE

1. *Taraxacum officinale* reprezintă o sursă valoroasă de compuși biologic activi (flavonoizi, polifenoli și fitosteroli) conținutul cărora depinde de partea componentă a plantei, tipul și concentrația extractantului. Conținutul cel mai înalt al compușilor menționați a fost determinat în extractele din frunzele plantei pe soluție de etanol de 50% și 80%.
2. Extractele din *Taraxacum officinale* exercită activitate de atenuare a stresului oxidativ/nitrosativ condiționată de potențialul antiradicalic comparabil cu cel al Troloxului și Rutinei și influența selectivă (stimulare sau inhibare) asupra activității eNOS și producerii NO, ce modulează intensitatea peroxidării lipidelor relevată de variațiile nivelului DAM.
3. Extractele din *Taraxacum officinale* denotă acțiuni modulatoare asupra capacității antioxidante manifestată prin variația activității enzimelor antioxidante majore – SOD, CAT, GPx, GST și GR, asociată cu schimbările în acord a homeostaziei tiol-disulfidice și modificări subsecvente ale capacității antioxidante totale, masei substanțelor și activității medii a antioxidantilor.
4. Extractele din *Taraxacum officinale* posedă activitate antitumorală *in vitro* față de celulele de gliom uman U-251 MG condiționată de dereglarea proceselor metabolice celulare induse concludent de către extractele foliare pe etanol de 50% (MTT) și extractele foliare pe DMSO și radiculare pe etanol de concentrație înaltă (Testul cu Resazurină).
5. Acțiunile manifestate de *Taraxacum officinale* depind de organul plantei, tipul și concentrația extractantului, iar la utilizare în calitate de agent de reducere și de timpul de acțiune a extractului.

RECOMANDĂRI PRACTICE

Se recomandă de a:

1. descrie detaliat arealul de creștere al *Taraxacum officinale*, perioada de recoltare, organele anatomice, extractanții de diversă polaritate, și metodele utilizate în extragerea compușilor bioactivi în publicațiile științifice ce prezintă rezultatele studiilor componente chimice, efectelor biologice și ale mecanismelor biochimice de acțiune a extractelor din *Taraxacum officinale*;
2. continua cercetarea acțiunii antineoplazice a *Taraxacum officinale*, în vederea stabilirii tipurilor de tumori sensibile, precum și pentru elucidarea mecanismelor moleculare ale acțiunii antitumorale;
3. utiliza metodele de cercetare optimizate, dezvoltate în cadrul studiului, în procesul didactic (lucrări de laborator) al studenților/masteranzilor/rezidenților la disciplinele de biochimie și biochimie clinică, farmacognozie și botanică farmaceutică.

BIBLIOGRAFIE

- 1 Ganesan A. The impact of natural products upon modern drug discovery. *Curr Opin Chem Biol.* 2008 Jun;12(3):306–17.
- 2 González-Castejón M, Visioli F, Rodriguez-Casado A. Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews.* 2012 Sep;70(9):534–47.
- 3 Schütz K, Carle R, Schieber A. Taraxacum--a review on its phytochemical and pharmacological profile. *J Ethnopharmacol.* 2006 Oct;107(3):313–23.
- 4 Qureshi S, Adil S, El-Hack MEA, Alagawany M, Farag MR. Beneficial uses of dandelion herb (*Taraxacum officinale*) in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal.* 2017 Sep;73(3):591–602.
- 5 **Fulga A**, Casian A, Casian I, Protopop S, Gudumac V, Tagadiuc O. Effects of *Taraxacum officinale* on Glioblastoma Cell Culture and Their Correlation with Hydroxycinnamic Acids Content. *Medical Sciences Forum.* 2023;21(1):18.
- 6 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 Jan;24(6):1025.
- 7 Lis B, Olas B. Pro-health activity of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) and its food products – history and present. *Journal of Functional Foods.* 2019 Aug;59:40–8.
- 8 Di Napoli A, Zucchetti P. A comprehensive review of the benefits of *Taraxacum officinale* on human health. *Bulletin of the National Research Centre.* 2021 Iunie;45(1):110.
- 9 Faria T, Nascimento CCHC, Vasconcelos SDDD, Stephens PRS. Literature Review on the Biological Effects of *Taraxacum Officinale* Plant In Therapy. *Asian J Pharm Res Dev.* 2019 Jun;7(3):94–9.
- 10 Cancer (IARC) TIA for R on. Global Cancer Observatory [Internet]. [cited 2022 Feb 2]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
- 11 Kroschinsky F, Stölzel F, Bonin S von, Beutel G, Kochanek M, Kiehl M, et al. New drugs, new toxicities: severe side effects of modern targeted and immunotherapy of cancer and their management. *Critical Care.* 2017;21. DOI: 10.1186/s13054-017-1678-1
- 12 Engels G, Brinckmann J. Dandelion *Taraxacum officinale* Family: Asteraceae [Internet]. [cited 2022 Feb 2]. Available from: <https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/109/table-of-contents/hg109-herbpro-dandelion/>
- 13 Honek A, Martinkova Z, Saska P. Effect of size, taxonomic affiliation and geographic origin of dandelion (*Taraxacum* agg.) seeds on predation by ground beetles (Carabidae, Coleoptera). *Basic and Applied Ecology.* 2011 Feb;12:89–96.
- 14 Mingarro DM, Plaza A, Galán A, Vicente JA, Martínez MP, Acero N. The effect of five *Taraxacum* species on in vitro and in vivo antioxidant and antiproliferative activity. *Food Funct.* 2015 Aug;6(8):2787–93.
- 15 Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal medicines. 3rd ed. London ; Grayslake, IL: Pharmaceutical Press; 2007.
- 16 Budzianowski J. Coumarins, caffeoyltartaric acids and their artifactual methyl esters from *Taraxacum officinale* leaves. *Planta Med.* 1997 Jun;63(3):288.
- 17 Schütz K, Kammerer DR, Carle R, Schieber A. Characterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herb by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 2005 Jan;19(2):179–86.

- 18 Assessment report on *Taraxacum officinale* Weber ex Wigg., radix cum herba. 19. Available on: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-taraxacum-officinale-weber-ex-wigg-radix-cum-herba_en.pdf
- 19 Singh A, Malhotra S, Subban R. Phcog Rev.: Plant Review Dandelion (*Taraxacum officinale*) - Hepatoprotective Herb with Therapeutic Potential. *Pharmacognosy Reviews*. 2008;2(3):5.
- 20 Kuusi T, Pyysalo H, Autio K. Bitterness properties of dandelion: II. Chemical investigations. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 1985;18(6):339–46.
- 21 Kisiel W, Barszcz B. Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia*. 2000 Jun;71(3):269–73.
- 22 Westerman L, Roddick JG. Annual Variation in Sterol Levels in Leaves of *Taraxacum officinale* Weber. *Plant Physiology*. 1981 Oct;68(4):872–5.
- 23 Chrubasik S. ESCOP Monographs. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. Second Edition Supplement 2009; Thieme Publisher: Stuttgart, New York; ESCOP 2009, ISBN 978-1-901964-08-0 (ECOP), ISBN 978-3-13-149981-3 (GTV), (Postage and packing per copy to the UK or Europe). *Phytotherapy Research*. 2010;24(3):474–474.
- 24 Liu N, Song M, Wang N, Wang Y, Wang R, An X, et al. The effects of solid-state fermentation on the content, composition and in vitro antioxidant activity of flavonoids from dandelion. *PLoS One*. 2020 Sep;15(9):e0239076.
- 25 Aremu OO, Oyedeji AO, Oyedeji OO, Nkeh-Chungag BN, Rusike CRS. In Vitro and In Vivo Antioxidant Properties of *Taraxacum officinale* in N ω -Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME)-Induced Hypertensive Rats. *Antioxidants*. 2019 Aug;8(8):309.
- 26 Assessment report on *Taraxacum officinale* Weber ex.pdf. [cited 2021 Jun 10]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-taraxacum-officinale-weber-ex-wigg-radix-cum-herba_en.pdf
- 27 Simándi B, Kristo SzT, Kéry Á, Selmeczi LK, Kmecz I, Kemeny S. Supercritical fluid extraction of dandelion leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2002 Jun;23:135–42.
- 28 Tsialtas JT, Kassioumi M, Veresoglou DS. Evaluating Leaf Ash Content and Potassium Concentration as Surrogates of Carbon Isotope Discrimination in Grassland Species. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2002;188(3):168–75.
- 29 Queralt I, Ovejero M, Carvalho ML, Marques AF, Llabrés JM. Quantitative determination of essential and trace element content of medicinal plants and their infusions by XRF and ICP techniques. *X-Ray Spectrometry*. 2005;34(3):213–7.
- 30 Sogut O, Hasan F, Aktaş, Haznedaroğlu M. Analysis of Sodium and Potassium Levels in *Taraxacum officinale* by Flame Emission Photometry *Taraxacum officinale*'deki Sodyum ve Potasyum Düzeylerinin Alev Emisyon Fotometresi ile Tayini. *Acta Pharmaceutica Turcica*. 2005 Jan;47:127–30.
- 31 Keane B, Collier MH, Shann JR, Rogstad SH. Metal content of dandelion (*Taraxacum officinale*) leaves in relation to soil contamination and airborne particulate matter. *Sci Total Environ*. 2001 Dec;281(1–3):63–78.
- 32 Królak E. Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd by Dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) in Environments with Various Degrees of Metallic Contamination. undefined. 2003 [cited 2021 Jun 11]. Available from: /paper/Accumulation-of-Zn%2C-Cu%2C-Pb-and-Cd-by-Dandelion-in-Kr%C3%B3lak/b2cc1bea550af79f0c56cad6e0a7fe6cf0b922d

- 33 Meléndez-Martínez AJ, Britton G, Vicario IM, Heredia FJ. HPLC analysis of geometrical isomers of lutein epoxide isolated from dandelion (*Taraxacum officinale* F. Weber ex Wiggers). *Phytochemistry*. 2006 Apr;67(8):771–7.
- 34 Popović M, Kaurinović B, Mimica-Dukić N, Vojinović-Miloradov M, Čupić V. Combined effects of plant extracts and xenobiotics on liposomal lipid peroxidation. Part 4. Dandelion extract - Ciprofloxacin/pyralene. *Oxidation Communications*. 2001;24(3):344–51.
- 35 Jędrejek 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 Jan;262:29–37.
- 36 Jedrejek D, Lis B, Rolnik A, Stochmal A, Olas B. Comparative phytochemical, cytotoxicity, antioxidant and haemostatic studies of *Taraxacum officinale* root preparations. *Food and Chemical Toxicology*. 2019 Apr;126:233–47.
- 37 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 Nov;25(22). DOI: 10.3390/molecules25225402
- 38 Lone SH, Khuroo MA. Biflavanoids: chemical and pharmacological aspects. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Ltd; 2016.
- 39 Choi J, Yoon KD, Kim J. Chemical constituents from *Taraxacum officinale* and their α -glucosidase inhibitory activities. *Bioorg Med Chem Lett*. 2018 Feb;28(3):476–81.
- 40 Schütz K, Muks E, Carle R, Schieber A. Separation and quantification of inulin in selected artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars and dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) roots by high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Biomed Chromatogr*. 2006 Dec;20(12):1295–303.
- 41 Tita B, Bello U, Faccendini P, Bartolini R. *Taraxacum officinale* W.: pharmacological effect of ethanol extract. VI Congress of the Italian Society of Pharmacognosy Rome, October 9-12, 1991. 1993;27(1/sup):23.
- 42 Yasukawa K, Akihisa T, Inoue Y, Tamura T, Yamanouchi S, Takido M (College of P. Inhibitory effect of the methanol extracts from Compositae plants on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ear oedema in mice. *Phytotherapy Research* (United Kingdom). 1998 [cited 2021 Jun 11]. Available from: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1997056517>
- 43 Kashiwada Y, Takanaka K, Tsukada H, Miwa Y, Taga T, Tanaka S, et al. Sesquiterpene glucosides from anti-leukotriene B₄ release fraction of *Taraxacum officinale*. *J Asian Nat Prod Res*. 2001;3(3):191–7.
- 44 Hu C, Kitts DD. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine*. 2005 Aug;12(8):588–97.
- 45 Koh Y-J, Cha D-S, Ko J-S, Park H-J, Choi H-D. Anti-inflammatory effect of *Taraxacum officinale* leaves on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells. *J Med Food*. 2010 Aug;13(4):870–8.
- 46 Seo S-W, Koo H-N, An H-J, Kwon K-B, Lim B-C, Seo E-A, et al. *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats. *World J Gastroenterol*. 2005 Jan;11(4):597–9.
- 47 Liu L, Xiong H, Ping J, Ju Y, Zhang X. *Taraxacum officinale* protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *J Ethnopharmacol*. 2010 Jul;130(2):392–7.

- 48 Shi S, Zhao Y, Zhou H, Zhang Y, Jiang X, Huang K. Identification of antioxidants from *Taraxacum mongolicum* by high-performance liquid chromatography-diode array detection-radical-scavenging detection-electrospray ionization mass spectrometry and nuclear magnetic resonance experiments. *J Chromatogr A*. 2008 Oct;1209(1–2):145–52.
- 49 Hu G, Wang J, Hong D, Zhang T, Duan H, Mu X, et al. Effects of aqueous extracts of *Taraxacum Officinale* on expression of tumor necrosis factor-alpha and intracellular adhesion molecule 1 in LPS-stimulated RMMVECs. *BMC Complement Altern Med*. 2017 Jan;17(1):38.
- 50 Jeon D, Kim SJ, Kim HS. Anti-inflammatory evaluation of the methanolic extract of *Taraxacum officinale* in LPS-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complement Altern Med*. 2017 Nov;17(1):508.
- 51 Park CM, Jin K-S, Lee Y-W, Song YS. Luteolin and chicoric acid synergistically inhibited inflammatory responses via inactivation of PI3K-Akt pathway and impairment of NF-κB translocation in LPS stimulated RAW 264.7 cells. *Eur J Pharmacol*. 2011 Jun;660(2–3):454–9.
- 52 Jackson LN, Zhou Y, Qiu S, Wang Q, Evers BM. Alternative medicine products as a novel treatment strategy for inflammatory bowel disease. *Am J Chin Med*. 2008;36(5):953–65.
- 53 Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020 Jul;21(7):363–83.
- 54 Sumanth M, Rana AC. In vivo antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Taraxacum officinale* roots in rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 2006 Jan;38(1):54.
- 55 Hu C, Kitts DD. Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro. *J Agric Food Chem*. 2003 Jan;51(1):301–10.
- 56 Hu C, Kitts DD. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine*. 2005 Aug;12(8):588–97.
- 57 Jeon H-J, Kang H-J, Jung H-J, Kang Y-S, Lim C-J, Kim Y-M, et al. Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. *J Ethnopharmacol*. 2008 Jan;115(1):82–8.
- 58 Hagymási K, Blázovics A, Fehér J, Lugasi A, Kristó ST, Kéry A. The in vitro effect of dandelions antioxidants on microsomal lipid peroxidation. *Phytother Res*. 2000 Feb;14(1):43–4.
- 59 Hagymási K, Blázovics A, Lugasi A, Kristó ST, Fehér J, Kéry Á. In vitro antioxidant evaluation of dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) water extracts. *Acta Alimentaria*. 2000;29(1):1–7.
- 60 Kaurinovic B, Popovic M, Cebovic T, Mimica-Dukic N. Effects of *Calendula officinalis* L. and *Taraxacum officinale* Weber (Asteraceae) extracts on the production of OH• radicals. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2003 Jan;12:250–3.
- 61 Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 2007 Jan;105(3):940–9.
- 62 Choi HR, Choi JS, Han YN, Bae SJ, Chung HY. Peroxynitrite scavenging activity of herb extracts. *Phytother Res*. 2002 Jun;16(4):364–7.
- 63 Sumanth M, Rana AC. In vivo antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Taraxacum officinale* roots in rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 2006 Jan;38(1):54.
- 64 Yoo KM, Hwang I-K, Moon B. Comparative flavonoids contents of selected herbs and associations of their radical scavenging activity with antiproliferative actions in V79-4 cells. *J Food Sci*. 2009 Aug;74(6):C419-425.

- 65 Vasmatkar P, Baral P. Total Polyphenolic Contents and Antioxidant Activity of Leaf, Bark and Root of *Adina cordifolia* Benth. & Hook. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences (JPCBS)*. 2016 Nov
- 66 Padmapriya R, Ashwini S, Raveendran R. In vitro antioxidant and cytotoxic potential of different parts of *Tephrosia purpurea*. *Res Pharm Sci*. 2017 Feb;12(1):31–7.
- 67 Tshabalala T, Ndhkala AR, Ncube B, Abdelgadir HA, Van Staden J. Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. *South African Journal of Botany*. 2020 Mar;129:106–12.
- 68 Petlevski R, Hadzija M, Slijepcević M, Juretić D, Petrik J. Glutathione S-transferases and malondialdehyde in the liver of NOD mice on short-term treatment with plant mixture extract P-9801091. *Phytother Res*. 2003 Apr;17(4):311–4.
- 69 Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, et al. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clin Chim Acta*. 2002 Mar;317(1–2):109–17.
- 70 Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, Juretic D. Effect of “antidiabetis” herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *J Ethnopharmacol*. 2001 May;75(2–3):181–4.
- 71 Hussain Z, Waheed A, Qureshi RA, Burdi DK, Verspohl EJ, Khan N, et al. The effect of medicinal plants of Islamabad and Murree region of Pakistan on insulin secretion from INS-1 cells. *Phytother Res*. 2004 Jan;18(1):73–7.
- 72 Johnston KL, Clifford MN, Morgan LM. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am J Clin Nutr*. 2003 Oct;78(4):728–33.
- 73 Onal S, Timur S, Okutucu B, Zihnioglu F. Inhibition of alpha-glucosidase by aqueous extracts of some potent antidiabetic medicinal herbs. *Prep Biochem Biotechnol*. 2005;35(1):29–36.
- 74 Melzig MF, Funke I. Pflanzliche alpha-Amylasehemmer – eine Möglichkeit zur Phytotherapie bei Diabetes mellitus Typ II? *Wien Med Wochenschr*. 2007 Jul;157(13):320–4.
- 75 Kim J, Noh K, Cho M, Jang J, Song Y. Anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of Dandelion (*Taraxacum officinale*) extracts in C57BL/6 mice fed atherogenic diet. *The FASEB Journal*. 2007;21(6):A1122–A1122.
- 76 Kim MY, Cheong SH, Kim MH, Son C, Yook H-S, Sok D-E, et al. Leafy vegetable mix supplementation improves lipid profiles and antioxidant status in C57BL/6J mice fed a high fat and high cholesterol diet. *J Med Food*. 2009 Aug;12(4):877–84.
- 77 Choi U-K, Lee O-H, Yim JH, Cho C-W, Rhee YK, Lim S-I, et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of dandelion (*Taraxacum officinale*) root and leaf on cholesterol-fed rabbits. *Int J Mol Sci*. 2010 Jan;11(1):67–78.
- 78 Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, et al. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med*. 2005 Mar;352(11):1138–45.
- 79 Moreno DA, Ripoll C, Ilic N, Poulev A, Aubin C, Raskin I. Inhibition of lipid metabolic enzymes using *Mangifera indica* extracts. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 2006 Jan;4(1):21–6.
- 80 Pierre S, Crosbie L, Duttaroy AK. Inhibitory effect of aqueous extracts of some herbs on human platelet aggregation in vitro. *Platelets*. 2005 Dec;16(8):469–73.

- 81 Lis B, Jędrejek D, Stochmal A, Olas B. Assessment of effects of phenolic fractions from leaves and petals of dandelion in selected components of hemostasis. *Food Res Int*. 2018 May;107:605–12.
- 82 Guerrero JA, Navarro-Nuñez L, Lozano ML, Martínez C, Vicente V, Gibbins JM, et al. Flavonoids inhibit the platelet TxA(2) signalling pathway and antagonize TxA(2) receptors (TP) in platelets and smooth muscle cells. *Br J Clin Pharmacol*. 2007 Aug;64(2):133–44.
- 83 Trojanová I, Rada V, Kokoska L, Vlková E. The bifidogenic effect of *Taraxacum officinale* root. *Fitoterapia*. 2004 Dec;75(7–8):760–3.
- 84 Sengul M, Yildiz H, Gungor N, Cetin B, Eser Z, Ercisli S. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pak J Pharm Sci*. 2009 Jan;22(1):102–6.
- 85 Kenny O, Brunton NP, Walsh D, Hewage CM, McLoughlin P, Smyth TJ. Characterisation of antimicrobial extracts from dandelion root (*Taraxacum officinale*) using LC-SPE-NMR. *Phytother Res*. 2015 Apr;29(4):526–32.
- 86 Díaz K, Espinoza L, Madrid A, Pizarro L, Chamy R. Isolation and Identification of Compounds from Bioactive Extracts of *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. (Dandelion) as a Potential Source of Antibacterial Agents. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018 Jan;2018:2706417.
- 87 Yoon T-J. Effect of Water Extracts from Root of *Taraxacum officinale* on Innate and Adaptive Immune Responses in Mice. *The Korean Journal of Food And Nutrition*. 2008;21(3):275–82.
- 88 Park C, Zhou Y, Song Y. Hepatoprotective effect of dandelion(*Taraxacum officinale*) against acute liver injury induced by Carbon tetrachloride in Sprague-Dawley rats. *The FASEB Journal*. 2007;21(6):A1122–A1122.
- 89 Domitrović R, Jakovac H, Romić Z, Rahelić D, Tadić Z. Antifibrotic activity of *Taraxacum officinale* root in carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *J Ethnopharmacol*. 2010 Aug;130(3):569–77.
- 90 Shi H, Dong L, Bai Y, Zhao J, Zhang Y, Zhang L. Chlorogenic acid against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Eur J Pharmacol*. 2009 Nov;623(1–3):119–24.
- 91 You Y, Yoo S, Yoon H-G, Park J, Lee Y-H, Kim S, et al. In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. *Food Chem Toxicol*. 2010 Jun;48(6):1632–7.
- 92 Mahesh A, Jeyachandran R, Cindrella L, Thangadurai D, Veerapur VP, Muralidhara Rao D. Hepatocurative potential of sesquiterpene lactones of *Taraxacum officinale* on carbon tetrachloride induced liver toxicity in mice. *Acta Biol Hung*. 2010 Jun;61(2):175–90.
- 93 Fang JY. [Effect of fu-zheng qu-xie on gastric disease infected with *Campylobacter pyloridis*]. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 1991 Mar;11(3):150–2, 133.
- 94 Maliakal PP, Wanwimolruk S. Effect of herbal teas on hepatic drug metabolizing enzymes in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2001 Oct;53(10):1323–9.
- 95 Gargouri M, Magné C, Ben Amara I, Ben Saad H, El Feki A. Dandelion-enriched diet of mothers alleviates lead-induced damages in liver of newborn rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2017 Feb;63(2):67–75.
- 96 Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Masuda K, Arai Y, Shiojima K, et al. Anticarcinogenic activity of *Taraxacum* plant. I. *Biol Pharm Bull*. 1999 Jun;22(6):602–5.
- 97 Ovesná Z, Vachálková A, Horváthová K. Taraxasterol and beta-sitosterol: new naturally compounds with chemoprotective/chemopreventive effects. *Neoplasma*. 2004;51(6):407–14.

- 98 Hata K, Mukaiyama T, Tsujimura N, Sato Y, Kosaka Y, Sakamoto K, et al. Differentiation-inducing activity of lupane triterpenes on a mouse melanoma cell line. *Cytotechnology*. 2006 Nov;52(3):151–8.
- 99 Ma P, Dong X, Swadley CL, Gupte A, Leggas M, Ledebur HC, et al. Development of idarubicin and doxorubicin solid lipid nanoparticles to overcome Pgp-mediated multiple drug resistance in leukemia. *J Biomed Nanotechnol*. 2009 Apr;5(2):151–61.
- 100 Kekre N, Griffin C, McNulty J, Pandey S. Pancratistatin causes early activation of caspase-3 and the flipping of phosphatidyl serine followed by rapid apoptosis specifically in human lymphoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2005 Jul;56(1):29–38.
- 101 Ovadje P, Chatterjee S, Griffin C, Tran C, Hamm C, Pandey S. Selective induction of apoptosis through activation of caspase-8 in human leukemia cells (Jurkat) by dandelion root extract. *J Ethnopharmacol*. 2011 Jan;133(1):86–91.
- 102 Hueber AO, Zörnig M, Bernard AM, Chautan M, Evan G. A dominant negative Fas-associated death domain protein mutant inhibits proliferation and leads to impaired calcium mobilization in both T-cells and fibroblasts. *J Biol Chem*. 2000 Apr;275(14):10453–62.
- 103 Choi J-H, Shin K-M, Kim N-Y, Hong J-P, Lee YS, Kim HJ, et al. Taraxinic acid, a hydrolysate of sesquiterpene lactone glycoside from the *Taraxacum coreanum* NAKAI, induces the differentiation of human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Biol Pharm Bull*. 2002 Nov;25(11):1446–50.
- 104 Koo H-N, Hong S-H, Song B-K, Kim C-H, Yoo Y-H, Kim H-M. *Taraxacum officinale* induces cytotoxicity through TNF- α and IL-1 α secretion in Hep G2 cells. *Life Sci*. 2004 Jan;74(9):1149–57.
- 105 Kim HM, Oh CH, Chung CK. Activation of inducible nitric oxide synthase by *Taraxacum officinale* in mouse peritoneal macrophages. *Gen Pharmacol*. 1999 Jun;32(6):683–8.
- 106 Kim HM, Shin HY, Lim KH, Ryu ST, Shin TY, Chae HJ, et al. *Taraxacum officinale* inhibits tumor necrosis factor- α production from rat astrocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2000 Aug;22(3):519–30.
- 107 Gol'dberg ED, Amosova EN, Zueva EP, Razina TG, Krylova SG, Reikhardt DV. Effects of extracts from medicinal plants on the development of metastatic process. *Bull Exp Biol Med*. 2004 Sep;138(3):288–94.
- 108 Lopatina KA, Razina TG, Zueva EP, Krylova SG, Amosova EN, Guryev AM. Plant polysaccharides in combined therapy of transplanted tumors. *Bull Exp Biol Med*. 2007 Jan;143(1):24–7.
- 109 Sigstedt SC, Hooten CJ, Callewaert MC, Jenkins AR, Romero AE, Pullin MJ, et al. Evaluation of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on growth and invasion of breast and prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*. 2008 May;32(5):1085–90.
- 110 Baba K, Abe S, Mizuno D. Antitumor activity of hot water extract of dandelion, *Taraxacum officinale*-correlation between antitumor activity and timing of administration. *Yakugaku Zasshi*. 1981 Jun;101(6):538–43.
- 111 Yoon J-Y, Cho H-S, Lee J-J, Lee H-J, Jun SY, Lee J-H, et al. Novel TRAIL sensitizer *Taraxacum officinale* F.H. Wigg enhances TRAIL-induced apoptosis in Huh7 cells. *Mol Carcinog*. 2016 Apr;55(4):387–96.
- 112 Gerbino A, Russo D, Colella M, Procino G, Svelto M, Milella L, et al. Dandelion Root Extract Induces Intracellular Ca²⁺ Increases in HEK293 Cells. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr;19(4):E1112.

- 113 Clare BA, Conroy RS, Spelman K. The diuretic effect in human subjects of an extract of *Taraxacum officinale* folium over a single day. *J Altern Complement Med*. 2009 Aug;15(8):929–34.
- 114 Zhi X, Honda K-I, Ozaki K, Misugi T, Sumi T, Ishiko O. Dandelion T-1 extract up-regulates reproductive hormone receptor expression in mice. *Int J Mol Med*. 2007 Sep;20(3):287–92.
- 115 Oh SM, Kim HR, Park YJ, Lee YH, Chung KH. Ethanolic extract of dandelion (*Taraxacum mongolicum*) induces estrogenic activity in MCF-7 cells and immature rats. *Chin J Nat Med*. 2015 Nov;13(11):808–14.
- 116 Rodrigo R, González J, Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res*. 2011 Apr;34(4):431–40.
- 117 Montezano AC, Touyz RM. Molecular mechanisms of hypertension--reactive oxygen species and antioxidants: a basic science update for the clinician. *Can J Cardiol*. 2012 May;28(3):288–95.
- 118 Vauzour D, Rodriguez-Mateos A, Corona G, Oruna-Concha MJ, Spencer JPE. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*. 2010 Nov;2(11):1106–31.
- 119 Desch S, Schmidt J, Kobler D, Sonnabend M, Eitel I, Sareban M, et al. Effect of cocoa products on blood pressure: systematic review and meta-analysis. *Am J Hypertens*. 2010 Jan;23(1):97–103.
- 120 Tahtamouni LH, Al-Khateeb RA, Abdellatif RN, Al-Mazaydeh ZA, Yasin SR, Al-Gharabli S, et al. Anti-spermatogenic activities of *Taraxacum officinale* whole plant and leaves aqueous extracts. *Vet Res Forum*. 2016;7(2):89–97.
- 121 Mishra RK, Singh S, Singh SK. Natural products in regulation of male fertility. *Indian J Med Res*. 2018 Dec;148(Suppl 1):S107–14.
- 122 Li Y-C, Shen J-D, Li Y-Y, Huang Q. Antidepressant effects of the water extract from *Taraxacum officinale* leaves and roots in mice. *Pharm Biol*. 2014 Aug;52(8):1028–32.
- 123 Chen X, Thibeault S. Effect of DMSO Concentration, Cell Density and Needle Gauge on the Viability of Cryopreserved Cells in Three Dimensional Hyaluronan Hydrogel. *Conference proceedings : . Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Conference*. 2013;2013:6228.
- 124 Costa L de A, Ottoni MHF, Santos MG dos, Meireles AB, Almeida VG de, Pereira W de F, et al. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Decreases Cell Proliferation and TNF- α , IFN- γ , and IL-2 Cytokines Production in Cultures of Peripheral Blood Lymphocytes. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*. 2017 Nov;22(11). DOI: 10.3390/molecules22111789
- 125 **Fulga A**, Pantea V, Andronache L, Tagadiuc O, Gudumac V. Metodă de dozare a conținutului total de flavonoizi. 2021 Jun
- 126 **Fulga A**, Pantea V, Andronache L, Tagadiuc O, Gudumac V. Metodă de dozare a conținutului de compuși fenolici. 2021 Jun
- 127 **Fulga A**, Pantea V, Andronache L. Procedeu de dozare a β -sitosterolului și a derivaților lui. 2022 Oct
- 128 Opinion of the HMPC on a European Union herbal monograph on *Echinacea purpurea* (L.) Moench on https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-echinacea-purpurea-l-moench-herba-recens_en.pdf

- 129 Evans JD. Straightforward statistics for the behavioral sciences. Belmont, CA, US: Thomson Brooks/Cole Publishing Co; 1996.
- 130 Chen Q, Gruber H, Swist E, Coville K, Pakenham C, Ratnayake WM, et al. Dietary phytosterols and phytostanols decrease cholesterol levels but increase blood pressure in WKY inbred rats in the absence of salt-loading. *Nutrition & Metabolism*. 2010 Feb;7(1):11.
- 131 Ghosal A. A review on the role of Phytosterol enriched food in anticancer activity. *Metabolism - Clinical and Experimental*. 2022 Mar;128. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154982
- 132 Tristantini D, Amalia R. Quercetin concentration and total flavonoid content of anti-atherosclerotic herbs using aluminum chloride colorimetric assay. In: *AIP Conference Proceedeings*, 2193, 030012 (2019); Padang, Indonesia; 2019; p 030012, <https://doi.org/10.1063/1.5139349>.
- 133 Mariano A, Di Sotto A, Leopizzi M, Garzoli S, Di Maio V, Gulli M, et al. Antiarthritic Effects of a Root Extract from Harpagophytum procumbens DC: Novel Insights into the Molecular Mechanisms and Possible Bioactive Phytochemicals. *Nutrients*. 2020 Aug;12(9):2545.
- 134 Kristó TS, Szóke E, Kéry A, Terdy PP, Selmeczi LK, Simándi B. Production and characterisation of taraxacum officinale extracts prepared by supercritical fluid and solvent extractions. *Acta Horti*. 2003 Jan;(597):57–61.
- 135 Petkova NT, Ivanov I, Topchieva S, Panteley Denev, Pavlov A. Biologically active substances and in vitro antioxidant activity of different extracts from dandelion (*Taraxacum officinale*) roots. In: *Agriculture for life, life for agriculture*. 2015; (19). Bucharest, Romania. DOI: 10.13140/RG.2.1.2500.6563
- 136 Khan A, Arif K, Munir B, Kiran S, Jalal F, Qureshi N, et al. Estimating Total Phenolics in *Taraxacum officinale* (L.) Extracts. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2018 Aug;28. DOI: 10.15244/pjoes/78435
- 137 Xue Y, Zhang S, Du M, Zhu M-J. Dandelion extract suppresses reactive oxidative species and inflammasome in intestinal epithelial cells. *Journal of Functional Foods*. 2017 Feb;29:10–8.
- 138 Mir M amin, Sawhney SS, Jassal MMS. Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013 Jan;2:001–5.
- 139 Dedić S, Džaferović A, Jukić H. *Chemical composition and antioxidant activity of water-ethanol extracts of dandelion*. 2022;7. Available on: <https://hrcak.srce.hr/file/407477>
- 140 Stylianou N, Gekas V, Istudor V, Ionita C. Research regarding taraxacum officinale (L.) weber with the intention of therapeutic exploring. note i. studies of phenolcarboxylic acids. *Revista Farmacia*. 2014;62(2):358–65.
- 141 Ivanov I. Polyphenols Content and Antioxidant Activities of *Taraxacum officinale* F.H. Wigg (Dandelion) Leaves. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2014-15; 6(4); 889-893 ISSN: 0975-4873.
- 142 Tsai Y-L, Chiou S-Y, Chan K-C, Sung J-M, Lin S-D. Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of *Echinacea purpurea* flower extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 2012 Apr;46(1):169–76.
- 143 Epure A. Polyphenolic compounds, antioxidant activity and nephroprotective properties of romanian taraxacum officinale. *FARMACIA*. 2022 Feb;70(1):47–53.
- 144 Fatima T, Bashir O, Naseer B, Hussain SZ. Dandelion: Phytochemistry and clinical potential. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2018; 6(2): 198-202.

- 145 Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*. 2015 Jan;30(1):11–26.
- 146 Tagadiuc O, Gudumac V, Pantea V. Procedeu de dozare a activității superoxid dismutazei. 2010 Jul
- 147 Gudumac V, Tagadiuc O, Rîvneac V, Sardari V, Pantea V, Andronache L, et al. Investigații biochimice. Volumul II. Micrometode. Elaborare metodică. Tipogr. “Elena-VI”; 2010.
- 148 Tagadiuc O, Andronache L, Stirba O, Sardari V, Pantea V. Determinarea glutation peroxidazei. 2012 Oct
- 149 Tagadiuc O, Sardari V, Andronache L, Stirba O, Pantea V. Determinarea glutation-S-transferazei (GST). 2012 Oct
- 150 Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L, Stirba O, Sardari V. Determinarea glutation reductazei în eritrocite și ser sangvin. 2012 Nov
- 151 Andronache L. Protocole standardizate de cercetare a metabolismului glutationic (ghid practic). Tipogr. “Elan Poligraf”; 2014.
- 152 Gudumac V, Rîvneac V, Tagadiuc O, Sardari V, Rîvneac E, Andronache L, et al. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică Sub red Gudumac V USMF „Nicolae Testemițanu” Chișinău. 2012
- 153 Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 2018 Dec;54(4):287–93.
- 154 Cho SY, Oh YJ, Park JY, Lee MK, Kim MJ. Effect of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Leaf Extracts on Hepatic Antioxidative System in Rats Fed High Cholesterol Diet. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2003 [cited 2022 Oct 31].
- 155 Jung HJ, Sung HM, Kim KM, Shin Y-R, Wee and J-H. Comparison of Antioxidant Activities of Water Extract from Dandelion (*Taraxacum officinale*) Aerial Parts, Roots, and Their Mixtures. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2015 Aug;44(8):1157–64.
- 156 **Fulga A**, Pantea V. Antioxidant activity of *Taraxacum Officinale*. In: *The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. 2020 Sep;268–9.
- 157 Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stres: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:8416763.
- 158 Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stres in Humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:6501046.
- 159 Lü J-M, Lin PH, Yao Q, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*. 2010 Apr;14(4):840–60.
- 160 Rodríguez-Lara SQ, Cardona-Muñoz EG, Ramírez-Lizardo EJ, Totsuka-Sutto SE, Castillo-Romero A, García-Cobián TA, et al. Alternative Interventions to Prevent Oxidative Damage following Ischemia/Reperfusion. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:7190943.
- 161 Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB, Rahu N. Oxidative Stres and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:7432797.
- 162 Halliwell B. Oxidative stres and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem*. 2006 Jun;97(6):1634–58.
- 163 Ishfaq S, Sabir SM, Khurshid H, Zaman T, Ahmad Z. Antioxidant activities and inhibitory effect of *Taraxacum officinale*, *Cichorium intybus* and *Lectuca sativa* on prooxidant induced lipid peroxidation in mice liver. *Croatian journal of food science and technology*. 2018 May;10(1):16–22.

- 164 Deneke SM. Thiol-based antioxidants. *Curr Top Cell Regul.* 2000;36:151–80.
- 165 Padmanabhan P, Jangle SN. Evaluation of DPPH radical scavenging activity and reducing power of four selected medicinal plants and their combinations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research.* 2012 Apr;143–6.
- 166 Hansen RE, Otsu M, Braakman I, Winther JR. Quantifying Changes in the Cellular Thiol-Disulfide Status during Differentiation of B Cells into Antibody-Secreting Plasma Cells. *International Journal of Cell Biology.* 2013 Sep;2013:e898563.
- 167 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 Jan;20(1):71–8.
- 168 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.* 2019 Apr;126:233–47.
- 169 Chadwick M, Trewin H, Gawthrop F, Wagstaff C. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *International Journal of Molecular Sciences.* 2013 Jun;14(6):12780–805.
- 170 Wojtowicz E, Krupska A, Zawirska-Wojtasiak R. Antioxidant activity and free radicals of roasted herbal materials. *Herba Polonica.* 2017 Jun;63(2):34–41.
- 171 **Fulga A**, Protopop S, Andronache L, Tagadiuc O. The modulatory action of *Taraxacum officinale* on the glutathione system. *Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova Medical Sciences.* 2022 Dec;74(3):235–41.
- 172 Pflingstgraf IO, Taulescu M, Pop RM, 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 Apr;10(4):504.
- 173 Pflingstgraf IO, Taulescu M, Or R, Pop RM, Vlase L, Toma C, et al. Evaluation of the hepatoprotective effect of *Taraxacum officinale* L (Dandelion) root extract in experimental chronic liver failure. *HSRM.* 2021; 22(3):160-165.
- 174 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. *Antioxidants (Basel).* 2020 Feb;9(2):E131.
- 175 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 Jan;262:29–37.
- 176 Hassan HA, El-Kholy WM, Galal NA. Comparative Protective Effect of Moringa and Dandelion Extracts against Hepatic Disorders and Oxidative Stres Associated with Prolonged Use of Brufendrug in Rats. *EJHM.* 2015 Jul;60:336–46.
- 177 Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stres and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal.* 2012;5(1):9–19.
- 178 Re R, Pellegrini N, Proteggente AR, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 1999 May DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- 179 Zhang M, Liu N, Liu H. Determination of the Total Mass of Antioxidant Substances and Antioxidant Capacity per Unit Mass in Serum Using Redox Titration. *Bioinorganic Chemistry and Applications.* 2014 Jul;2014:e928595.
- 180 Tagadiuc O, Andronache L, Pantea V, Gudumac V, Svet I, Sardari V. Metodă pentru determinarea capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și a activității medii a antioxidantilor în probele biologice. 2018 Mar

- 181 Метельская ВА, Гуманова НГ. Скрининг-Метод Определения Уровня Метаболитов Оксид Азота В Сыворотке Крови. *Клиническая Лабораторная Диагностика*. 2005 [cited 2021 Apr 7]. ;(6). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17049510>
- 182 Gudumac V. Procedeu de dozare a metabolitului oxidului nitric în materialul biologic. 2003 Nov
- 183 Abdelkawy KS, Salem KA. Simple Method for Measuring Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity in Clinical Researches. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2015; 5(3):084-090.
- 184 Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L, Stirba O, Pantea V. Procedeu de dozare a dialdehidei malonice în materialul biologic. 2012 Dec
- 185 Koo H-N, Hong S-H, Song B-K, Kim C-H, Yoo Y-H, Kim H-M. Taraxacum officinale induces cytotoxicity through TNF-alpha and IL-1alpha secretion in Hep G2 cells. *Life Sci*. 2004 Jan;74(9):1149–57.
- 186 De V, Nascimento F, Vasconcelos C, De S, Stephens P, Saranraj P, et al. Literature Review on The Biological Effects of Taraxacum officinale Plant In Therapy. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 2019 Jun;7:94–9.
- 187 Milošević B, Popović M, Čebović T, Mimica-Dukić N. Effects of Calendula officinalis L. and Taraxacum officinale Weber (Asteraceae) extracts on the production of OH[•] radicals. 2003; [cited 2021 Feb 17]. Available from: <https://open.uns.ac.rs/handle/123456789/12967>
- 188 Hu C, Kitts DD. Antioxidant, Prooxidant, and Cytotoxic Activities of Solvent-Fractionated Dandelion (Taraxacum officinale) Flower Extracts in Vitro. *J Agric Food Chem*. 2003 Jan;51(1):301–10.
- 189 Suresh D, Annam V, Pratibha K, Prasad BM. Total antioxidant capacity – a novel early biochemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *Journal of Biomedical Science*. 2009 Jul;16(1):61.
- 190 Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr*. 2003 Sep;133(9):2812–9.
- 191 Pisoschi AM, Pop A, Cimpeanu C, Predoi G. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:9130976.
- 192 Özcan MM, Paksoy M, Ünver A. The antioxidant capacity and total phenol contents of leave and roots of Taraxacum officinale. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 2012, 18 (4): 270-271.
- 193 Ma L, Hu L, Feng X, Wang S. Nitrate and Nitrite in Health and Disease. *Aging Dis*. 2018 Oct;9(5):938–45.
- 194 Jeon H-J, Kang H-J, Jung H-J, Kang Y-S, Lim C-J, Kim Y-M, et al. Anti-inflammatory activity of Taraxacum officinale. *J Ethnopharmacol*. 2008 Jan;115(1):82–8.
- 195 Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983 Dec;65(1–2):55–63.
- 196 Karakaş D, Ari F, Ulukaya E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turk J Biol*. 2017;41(6):919–25.
- 197 GraphPad Prism 9 Curve Fitting Guide - Equation: Absolute IC50 [Internet]. [cited 2023 Mar 29]. Available from: https://www.graphpad.com/guides/prism/latest/curve-fitting/reg_absolute_ic50_2.htm

- 198 Fernandes C, Costa A, Osório L, Lago RC, Linhares P, Carvalho B, et al. Current Standards of Care in Glioblastoma Therapy. In: De Vleeschouwer S, editor. Glioblastoma. Brisbane (AU): Codon Publications; 2017; [cited 2022 Feb 20]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK469987/>
- 199 You Y-J, Nam N-H, Kim Y, Bae K-H, Ahn B-Z. Antiangiogenic activity of lupeol from *Bombax ceiba*. *Phytother Res*. 2003 Apr;17(4):341–4.
- 200 Lewandowska H, Kalinowska M, Lewandowski W, Stępkowski TM, Brzóska K. The role of natural polyphenols in cell signaling and cytoprotection against cancer development. *J Nutr Biochem*. 2016 Jun;32:1–19.
- 201 Erdogan S, Doganlar O, Doganlar ZB, Serttas R, Turkecul K, Dibirdik I, et al. The flavonoid apigenin reduces prostate cancer CD44(+) stem cell survival and migration through PI3K/Akt/NF- κ B signaling. *Life Sci*. 2016 Oct;162:77–86.
- 202 Ovadje P, Ammar S, Guerrero J-A, Arnason JT, Pandey S. Dandelion root extract affects colorectal cancer proliferation and survival through the activation of multiple death signalling pathways. *Oncotarget*. 2016 Aug;7(45):73080–100.
- 203 Chatterjee SJ, Ovadje P, Mousa M, Hamm C, Pandey S. The efficacy of dandelion root extract in inducing apoptosis in drug-resistant human melanoma cells. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:129045.
- 204 **Fulga A**, Protopop S., Gudumac V, Todiras M, Tagadiuc O. Dandelion suppresses glioblastoma – another assessment with the same result. *Herba Polonica*. 2023; In press.
- 205 Rashidi I, Rashtiani N, Pazhouhi M, Ghanbari A, Zhaleh M, Jalili C. Anti-invasion and anti-metastasis effects of Dandelion (*Taraxacum officinale*) hydroalcoholic extract on glioblastoma multiforme cell line model. *World Cancer Research Journal*. 2022 Jul;9(July 2022). DOI: 10.32113/wcrj_20227_2361
- 206 Rahman MdM, Rahaman MdS, Islam MdR, Rahman F, Mithi FM, Alqahtani T, et al. Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules*. 2021 Dec;27(1):233.
- 207 Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996 Jan;20(7):933–56.
- 208 Gil M, Wianowska D. Chlorogenic acids – their properties, occurrence and analysis. *aa*. 2017 Dec;72(1):61.
- 209 Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem*. 2001 Oct;49(10):4646–55.
- 210 Upadhyay R, Mohan Rao LJ. An outlook on chlorogenic acids-occurrence, chemistry, technology, and biological activities. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2013;53(9):968–84.
- 211 Li Z, Feng H, Han L, Ding L, Shen B, Tian Y, et al. Chicoric acid ameliorate inflammation and oxidative stress in Lipopolysaccharide and D-galactosamine induced acute liver injury. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2020 Jan;24. DOI: 10.1111/jcmm.14935
- 212 Ziamajidi N, Khaghani S, Hassanzadeh G, Vardasbi S, Ahmadian S, Nowrouzi A, et al. Amelioration by chicory seed extract of diabetes- and oleic acid-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/non-alcoholic steatohepatitis (NASH) via modulation of PPAR α and SREBP-1. *Food and Chemical Toxicology*. 2013 Aug;58:198–209.
- 213 Lee NY, Chung K-S, Jin JS, Bang KS, Eom Y-J, Hong C-H, et al. Effect of Chicoric Acid on Mast Cell-Mediated Allergic Inflammation in Vitro and in Vivo. *J Nat Prod*. 2015 Dec;78(12):2956–62.

- 214 Costas MA, Rubio MF. [Autophagy. A strategy for cell survival]. *Medicina (B Aires)*. 2017;77(4):314–20.
- 215 Rubis B, Paszel-Jaworska A, Kaczmarek M, Rudzińska M, Jelen H, Rybczynska M. Beneficial or harmful influence of phytosterols on human cells? *Br. The British journal of nutrition*. 2008 Apr;100:1183–91.
- 216 Awad AB, Roy R, Fink CS. Beta-sitosterol, a plant sterol, induces apoptosis and activates key caspases in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Oncol Rep*. 2003 Apr;10(2):497–500.
- 217 Popescu M, Dinu M, Ursache D. Contributions to the pharmacognostical and phytobiological study on *Taraxacum officinale* (L.) Weber. *Farmacologia*. 2010 Sep;58:646–53.
- 218 Kim HM, Shin HY, Lim KH, Ryu ST, Shin TY, Chae HJ, et al. *Taraxacum Officinale* Inhibits Tumor Necrosis Factor- α Production from Rat Astrocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2000 Jan;22(3):519–30.
- 219 **Fulga A**, Todiras M, Gudumac V, Tagadiuc O. *Taraxacum officinale* Leaves and Roots Suppress Glioma Cell Viability. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2022 Mar;10(3):175–89.
- 220 **Fulga A**, Gudumac V, Todiras M, Tagadiuc O. Can dandelion's phenolic compounds suppress glioblastoma cells viability? *Arch Balk Med Union*. 2023 Mar;58(1):8–18.

Tabelul 8. Influența extractelor din frunze de TO asupra sistemului antioxidant enzimatic (X±DS)

Extract	SOD (u/gHb)		CAT (μM/gHb)		GPx (nM /s·g·Hb)		GST (nM /s·g·Hb)		GR (nM /s·g·Hb)	
	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF
FDMSO	27,26±1,81	27,74±1,23	49,63±0,38	6,84±0,16	174,76±8,32	255,74±19,60	21,19±0,00	22,26±1,11	29,75±1,37	31,41±0,39
	+1,8% (p=0.83)		-86,2% (p=0.05)		+46,3% (p=0.05)		+5,1% (p=0.49)		+5,6% (p=0.13)	
FEtOH20	27,35±1,46	50,71±0,12	45,09±0,81	23,79±2,31	162,65±5,39	236,99±24,58	13,72±2,05	20,09±0,94	20,28±0,95	10,06±1,30
	+85,4% (p=0.05)		-47,2% (p=0.05)		+45,7% (p=0.05)		+46,4% (p=0.05)		-50,4% (p=0.05)	
FEtOH50	30,85±0,25	40,79±0,11	47,08±7,95	43,63±1,07	120,65±16,71	132,71±6,48	17,26±0,88	26,29±0,18	17,78±1,83	23,95±2,19
	+32,2% (p=0.05)		-7,3% (p=0.51)		+10% (p=0.28)		+52,3% (p=0.05)		+34,7% (p=0.05)	
FEtOH80	28,96±0,36	38,90±0,28	38,03±3,02	43,83±1,18	194,32±6,15	212,77±11,08	11,43±1,35	29,71±1,38	16,84±2,76	22,66±0,47
	+34,3% (p=0.05)		+15,2% (p=0.05)		+9,5% (p=0.05)		+160% (p=0.05)		+34,6% (p=0.05)	

Notă: % indică cu cât diferă rezultatul comparativ cu controlul. Concentrația extractelor de TO: FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L și FEtOH80 – 40,000 μg/L.

Tabelul 9. Acțiunea extractelor din rădăcini de TO asupra sistemului antioxidant enzimatic (X±DS)

Extract	SOD (u/gHb)		CAT ($\mu\text{M/gHb}$)		GPx (nM /s·g·Hb)		GST (nM /s·g·Hb)		GR (nM /s·g·Hb)	
	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR
RDMSO	27.24±1.21	50.10±10.73	45.38±1.22	26.17±9.84	211.71±59.55	184.16±53.97	14.44±1.90	24.84±2.45	20.38±1.36	18.29±1.02
	+83.9% (p=0.02)		-42.3% (p=0.02)		-13% (p=0.31)		+72% (p=0.02)		-10.2% (p=0.08)	
REtOH20	28.75±0.70	36.08±0.86	55.40±0.77	48.04±0.73	153.95±12.48	182.22±24.00	20.48±3.53	26.39±0.46	18.77±1.37	19.20±1.80
	+25.5% (p=0.05)		-13.3% (p=0.05)		+18.4% (p=0.13)		+28.9% (p=0.05)		+2.3% (p=0.51)	
REtOH50	27.26±1.81	42.23±1.66	49.63±0.38	41.88±11.67	174.76±8.32	141.07±22.27	21.19±0.00	23.32±1.89	29.75±1.37	20.42±0.001
	+54.9% (p=0.05)		-15.6% (p=0.51)		-19.3% (p=0.05)		+10% (p=0.04)		-31.4% (p=0.04)	
REtOH80	30.85±0.25	38.02±0.65	47.08±7.95	41.71±2.49	120.65±16.71	221.97±6.37	17.26±0.88	16.15±0.80	17.78±1.83	13.16±0.61
	+23.3% (p=0.05)		-11.4% (p=0.51)		+84% (p=0.05)		-6.4% (p=0.13)		-25.9% (p=0.05)	

Notă: % indică cu cât diferă rezultatul comparativ cu controlul. Concentrația extractelor de TO: RDMSO – 145,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH20 – 95,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH50 – 60,000 $\mu\text{g/L}$ și REtOH80 – 50,000 $\mu\text{g/L}$.

Tabelul 10. Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra sistemului antioxidant enzimatic

Extractant	Indice	Unitatea de măsură	Frunze (mediana)	Rădăcini (mediana)	Sensul	Mann-Whitney U test (<i>p</i>)
DMSO	SOD	u/gHb	27.74	48.91	F<R	0.05
DMSO	CAT	μM/gHb	6.84	25.89	F<R	0.05
DMSO	GPx	nM /s·g·Hb	255.74	161.51	F>R	0.05
DMSO	GST	nM /s·g·Hb	22.26	24.89	F<R	0.28
DMSO	GR	nM /s·g·Hb	31.41	18.16	F>R	0.05
EtOH20	SOD	u/gHb	50.71	36.08	F>R	0.05
EtOH20	CAT	μM/gHb	23.79	48.04	F<R	0.05
EtOH20	GPx	nM /s·g·Hb	237	182.22	F>R	0.05
EtOH50	SOD	u/gHb	40.79	42.23	F<R	0.51
EtOH50	CAT	μM/gHb	43.83	41.71	F>R	0.28
EtOH50	GPx	nM /s·g·Hb	132.7	141.07	F<R	0.51
EtOH50	GST	nM /s·g·Hb	26.29	23.32	F>R	0.05
EtOH50	GR	nM /s·g·Hb	23.95	20.42	F>R	0.04
EtOH80	SOD	u/gHb	38.90	38.02	F>R	0.13
EtOH80	CAT	μM/gHb	43.83	41.71	F>R	0.28
EtOH80	GPx	nM /s·g·Hb	212.8	221.97	F<R	0.28
EtOH80	GST	nM /s·g·Hb	29.71	16.15	F>R	0.05
EtOH80	GR	nM /s·g·Hb	22.66	13.16	F>R	0.05

Notă: F– frunze, R – rădăcini.

Tabelul 11. Influența extractelor din frunze de TO asupra conținutului de tioli și glutatoin(X±DS)

Extract	SH libere (μM/gHb)		SH total (μM/gHb)		GSH (μM/gHb)		GSSG (μM/gHb)		GLUTATION total (μM/gHb)	
	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF
FDMSO	3.85±0.10	3.30±0.31	4.22±0.04	3.79±0.08	18.77±3.06	13.98±2.82	3.79±0.71	8.46±3.48	22.57±3.77	22.44±0.65
	-14.2% (p=0.05)		-10% (p=0.05)		-25.5% (p=0.03)		+123.1% (p=0.05)		-0.6% (p=0.83)	
FEtOH20	3.73±0.07	3.24±0.03	3.93±0.11	3.47±0.05	13.38±5.27	10.88±0.83	3.39±1.99	8.11±0.74	16.77±3.27	18.98±1.57
	-13.1% (p=0.05)		-11.8% (p=0.05)		-18.7% (p=0.01)		+139.3% (p=0.05)		+13.2% (p=0.28)	
FEtOH50	3.05±0.04	3.05±0.09	3.43±0.09	3.26±0.12	9.92±2.71	14.62±2.15	9.16±3.66	8.73±0.64	19.08±0.95	23.35±2.79
	+0.2% (p=0.83)		-4.9% (p=0.13)		+47.3% (p=0.03)		-4.7% (p=0.83)		+22.4% (p=0.05)	
FEtOH80	3.23±0.13	3.02±0.01	3.48±0.13	3.15±0.02	7.78±0.77	18.01±1.02	4.24±0.02	10.39±3.16	12.02±0.78	28.40±2.14
	-6.7% (p=0.05)		-9.5% (p=0.05)		+131.5% (p=0.05)		+144.9% (p=0.05)		+136.2% (p=0.05)	

Notă: % indică cu cât diferă rezultatul comparativ cu controlul. Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L și FEtOH80 – 40,000 μg/L.

Tabelul 12. Acțiunea extractelor din rădăcini de TO asupra conținutului de tioli și glutatation ($X \pm DS$)

Extract	SH libere ($\mu\text{M/gHb}$)		SH total ($\mu\text{M/gHb}$)		GSH ($\mu\text{M/gHb}$)		GSSG ($\mu\text{M/gHb}$)		GLUTATION total ($\mu\text{M/gHb}$)	
	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR
RDMSO	3.58 \pm 0.33	3.23 \pm 0.23	3.77 \pm 0.29	3.53 \pm 0.18	14.05 \pm 4.38	13.32 \pm 2.35	3.07 \pm 1.67	4.02 \pm 1.18	17.12 \pm 2.71	17.34 \pm 3.15
	-9.7% (p=0.15)		-6.2% (p=0.15)		-5.2% (p=0.56)		+31.2% (p=0.25)		+1.3% (p=0.77)	
REtOH20	3.95 \pm 0.08	3.58 \pm 0.08	4.27 \pm 0.13	3.72 \pm 0.11	14.15 \pm 1.56	28.03 \pm 1.14	3.10 \pm 0.02	5.92 \pm 0.72	17.25 \pm 1.54	33.95 \pm 0.42
	-9.3% (p=0.05)		-12.9% (p=0.05)		+98% (p=0.05)		+91.2% (p=0.05)		+96.8% (p=0.05)	
REtOH50	3.85 \pm 0.10	3.18 \pm 0.07	4.22 \pm 0.04	3.38 \pm 0.17	18.77 \pm 3.06	13.33 \pm 0.69	3.79 \pm 0.71	11.46 \pm 3.27	22.57 \pm 3.77	24.79 \pm 3.96
	-17.5% (p=0.05)		-19.7% (p=0.05)		-29% (p=0.05)		+202.4% (p=0.05)		+9.9% (p=0.51)	
REtOH80	3.05 \pm 0.04	3.08 \pm 0.03	3.43 \pm 0.09	3.24 \pm 0.07	9.92 \pm 2.71	20.41 \pm 0.90	9.16 \pm 3.66	10.52 \pm 0.50	19.08 \pm 0.95	30.93 \pm 0.40
	+1.1% (p=0.28)		-5.4% (p=0.05)		+105.7% (p=0.05)		+14.9% (p=0.51)		+62.1% (p=0.05)	

Notă: % indică cu cât diferă rezultatul comparativ cu controlul. Concentrația extractelor: RDMSO – 145,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH20 – 95,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH50 – 60,000 $\mu\text{g/L}$ și REtOH80 – 50,000 $\mu\text{g/L}$.

Tabelul 13. Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra conținutului de tioli și glutation

Extractant	Indice	Unitatea de măsură	Frunze (mediana)	Rădăcini (mediana)	Sensul	Mann-Whitney U test (<i>p</i>)
DMSO	SH libere	μM/gHb	3.30	3.25	F>R	0.51
DMSO	SH total		3.79	3.53	F>R	0.13
DMSO	GSH		13.98	13.16	F>R	0.83
DMSO	GSSG		8.46	3.93	F>R	0.13
DMSO	Glutation total		22.44	17.90	F>R	0.05
EtOH20	SH libere		3.24	3.58	F<R	0.05
EtOH20	SH total		3.47	3.72	F<R	0.05
EtOH20	GSH		10.88	28.03	F<R	0.05
EtOH20	GSSG		8.11	5.92	F>R	0.05
EtOH20	Glutation total		18.98	33.95	F<R	0.05
EtOH50	SH libere		3.05	3.18	F<R	0.13
EtOH50	SH total		3.26	3.38	F<R	0.38
EtOH50	GSH		14.62	13.33	F>R	0.51
EtOH50	GSSG		8.73	11.46	F<R	0.28
EtOH50	Glutation total		23.35	24.79	F<R	0.51
EtOH80	SH libere		3.02	3.08	F<R	0.05
EtOH80	SH total		3.15	3.24	F<R	0.08
EtOH80	GSH		18.01	20.41	F<R	0.05
EtOH80	GSSG		10.39	10.52	F<R	0.83
EtOH80	Glutation total		28.4	30.93	F<R	0.13

Notă: F – frunze, R – rădăcini.

Tabelul 14. Activitatea enzimelor sistemului antioxidant în raport cu concentrația compușilor chimici testați

Extractul	Activitatea enzimatică (media)					Compuși chimici (mg/mL)						
	SOD (u/gHb)	CAT (μM/gHb)	GPOx (nM /s·g·Hb)	GST (nM /s·g·Hb)	GR (nM /s·g·Hb)	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cioric	Acid clorogenic	Acid caftaric
FDMSO	27.74	6.84	255.74	22.26	31.41	0.5	13.9	0.38	11.4	8.16	0.29	1.48
FEtOH20	50.71	23.79	236.99	20.09	10.06	4.61	31.4	1.11	33.8	23.8	0.88	5.16
FEtOH50	40.79	43.63	132.71	26.29	23.95	6.3	38	2.51	48.8	35	1.16	5.64
FEtOH80	38.90	43.83	212.77	29.71	22.66	6.52	11.5	2.34	4.96	2.26	0.29	0.18
RDMSO	50.10	26.17	184.16	24.84	18.29	0.6	4.04	0.34	1.07	0.76	0.11	0.1
REtOH20	36.08	48.04	182.22	26.39	19.20	1.74	2	0.59	1.68	0.65	0.1	0.55
REtOH50	42.23	41.88	141.07	23.32	20.42	0.96	4.86	0.44	8	5.34	0.65	0.74
REtOH80	38.02	41.71	221.97	16.15	13.16	1.28	8.3	0.46	3.14	1.62	0.54	0.11

Notă: CTF - conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli. Cu **bold** au fost selectate rezultatele minime și maxime a activității enzimactice. Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L, FEtOH80 – 40,000 μg/L, RDMSO – 145,000 μg/L, REtOH20 – 95,000 μg/L, REtOH50 – 60,000 μg/L și REtOH80 – 50,000 μg/L.

Tabelul 15. Valoarea markerilor homeostaziei tiol-disulfidice în raport cu concentrația compușilor chimici testați

Extractul	Markeri ($\mu\text{M/gHb}$)					Compuși chimici (mg/mL)						
	SH libere	SH total	Glutation total	GSH	GSSG	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
FDMSO	3.30	3.79	22.44	13.98	8.46	0.5	13.88	0.38	11.4	8.16	0.29	1.48
FEtOH20	3.24	3.47	18.98	10.88	8.11	4.61	31.4	1.11	33.8	23.8	0.88	5.16
FEtOH50	3.05	3.26	23.35	14.62	8.73	6.3	38	2.51	48.8	35	1.16	5.64
FEtOH80	3.02	3.15	28.40	18.01	10.39	6.52	11.52	2.34	4.96	2.26	0.29	0.18
RDMSO	3.23	3.53	17.34	13.32	4.02	0.6	4.04	0.34	1.07	0.76	0.11	0.1
REtOH20	3.58	3.72	33.95	28.03	5.92	1.74	2	0.59	1.68	0.65	0.1	0.55
REtOH50	3.18	3.38	24.79	13.33	11.46	0.96	4.86	0.44	8	5.34	0.65	0.74
REtOH80	3.08	3.24	30.93	20.41	10.52	1.28	8.3	0.46	3.14	1.62	0.54	0.11

Notă: CTF – conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli. Cu **bold** au fost selectate rezultatele minime și maxime a activității extractelor din TO. Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH20 – 140,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH50 – 150,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH80 – 40,000 $\mu\text{g/L}$, RDMSO – 145,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH20 – 95,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH50 – 60,000 $\mu\text{g/L}$ și REtOH80 – 50,000 $\mu\text{g/L}$.

Tabelul 16. Activitatea de reducere a radicalului ABTS a substanțelor de referință, Trolox și Rutina.

Timp incubare (min)	Concentrația Troloxului ($\mu\text{g/L}$)							
	23,440	46,880	93,750	187,500	375×10^3	750×10^3	15×10^5	3×10^6
	Inhibiția ABTS ($X \pm DS$, %)							
0	6.58 \pm 7.95	4.24 \pm 4.31	13.08 \pm 5.03	28.93 \pm 2.74	56.82 \pm 7.12	91.93 \pm 3.56	92.45 \pm 0.39	91.57 \pm 3.43
15	14.25 \pm 9.58	11.78 \pm 9.22	20.58 \pm 11.1	34.42 \pm 7.11	63.12 \pm 4.72	95.08 \pm 0.82	94.15 \pm 1.35	94.79 \pm 0.61
30	27.12 \pm 6.29	20.74 \pm 7.79	26.47 \pm 10.82	45.84 \pm 14.11	65.98 \pm 4.69	95.36 \pm 0.94	94.55 \pm 0.67	94.31 \pm 0.55

Timp incubare (min)	Concentrația Rutinei ($\mu\text{g/L}$)							
	23,440	46,880	93,750	187,500	375×10^3	750×10^3	15×10^5	3×10^6
	Inhibiția ABTS ($X \pm DS$, %)							
0	6.58 \pm 7.06	1.78 \pm 2.54	5.97 \pm 2.69	16.79 \pm 1.33	35.19 \pm 8.23	60.53 \pm 3.1	84.87 \pm 4.83	90.64 \pm 2.05
15	22.2 \pm 23.76	19.09 \pm 7.65	27.08 \pm 6.99	45.12 \pm 3.75	69.05 \pm 8.22	91.69 \pm 3.92	93.3 \pm 0.35	91.73 \pm 1.63
30	33.94 \pm 17.56	24.86 \pm 6.22	30.91 \pm 8.79	44.79 \pm 8.42	73.65 \pm 11.26	94.15 \pm 0.14	93.7 \pm 0.76	92.05 \pm 2.78

Tabelul 17. Activitatea de reducere a radicalului ABTS a extractelor din TO

Timp incubare (min)	Concentrația FDMSO (μg/L)						
	859	1719	3,438	6,875	13,750	27,500	55,000
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	16.9±3.39	41.4±7.61	86.8±1.35	85±2.56	75.6±1.03	70.3±5.49	59.3±6.19
15	31.7±3.87	69.7±4.76	89.7±1.56	83.9±3.81	77.3±4.02	69.2±6.45	58.9±11.39
30	37.9±4.04	81.7±4.98	88.1±2.16	82.1±3.31	78.5±3.72	62.5±6.74	55.3±12.62

Timp incubare (min)	Concentrația RDMSO (μg/L)						
	1,133	2,266	4,531	9,063	18,125	36,250	72,500
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	4.64±2.86	7.53±1.58	12.47±7.71	28.64±6.84	46.31±5.72	66.87±7.67	64.2±3.42
15	1.47±0.46	9.71±7.79	29.4±7.25	55.99±5.16	82.07±0.86	91.9±0.77	91.94±1.25
30	1.8±0.36	14.54±2.5	35.68±10.62	63.76±3.78	90.45±1.82	91.61±0.16	91.8±2.19

Timp incubare (min)	Concentrația FEtOH20 (μg/L)						
	1,094	2,188	4,375	8,750	17,500	35,000	70,000
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	25.1±18.52	66.9±16.49	89.54±2.59	89.78±1.81	90.48±1.01	88.84±2.7	77.91±6.59
15	47.64±17.53	87.41±3.96	89.32±3.16	87.27±3.76	89.01±2.95	85.92±3.99	86.27±4
30	58.87±18.95	84.23±6.81	88±3.98	85.08±4.55	87.36±3.92	83.57±4.84	84.05±5.09

Timp incubare (min)	Concentrația FEtOH50 (μg/L)						
	1,172	2,344	4,688	9,375	18,750	37,500	75,000
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	63.48±15.48	86.41±1.67	87.09±2.32	83.78±2.38	82.9±3.55	79.9±3.75	72.44±2.74
15	66.56±6.09	68.71±8.14	71.96±7.13	64.8±11.92	59.13±12.59	49.04±13.4	34.15±17.75
30	28.19±22.82	33.06±25.9	39±26.14	30.64±23.27	44±5.3	12.23±2.59	10.71±0.57

Tabelul 17. **Continuare**

Timp incubare (min)	Concentrația FEtOH80 (μg/L)						
	312.5	625	1,250	2,500	5,000	10,000	20,000
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	7.59±1.63	24.27±1.32	45.66±1.45	68.08±1.88	73.48±10.24	56.58±12.36	44.15±7.5
15	14.81±3.34	54.54±5.4	83.67±4.24	75.4±5.43	70.61±9.11	50.27±14.7	33.1±15.66
30	16.67±3.6	62.23±5.53	87.61±3.58	79.63±4.92	74.99±2.63	53.08±8.62	40.92±6.28

Timp incubare (min)	Concentrația REtOH20 (μg/L)						
	742	1,484	2,969	5,938	11,875	23,750	47,500
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	1.89±0.26	6.04±0.36	4.51±0.94	23.29±8.38	52.96±15.05	75.74±4.05	89.77±2.57
15	20.2±1.1	5.65±0.41	2.13±0.67	32.82±12.34	80.14±10.02	88.48±2.99	85.84±4.21
30	3.71±0.26	8.69±1.58	27.59±1.96	45.78±15.6	86.38±7.44	87.74±5.09	85.93±6.82

Timp incubare (min)	Concentrația REtOH50 (μg/L)						
	469	938	1,875	3,750	7,500	15,000	30,000
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	3.13±0.79	4.68±0.38	17.97±5.24	36.6±5.48	72.11±10.89	91.81±1.01	91.04±2.1
15	1.63±0.29	5.46±0.85	38.3±4.11	69.9±1.58	93.51±1.03	92.01±0.77	91.93±1.11
30	3.12±0.77	5.53±0.99	48.45±5.43	80.43±2.27	93.81±1.18	91.47±1.77	91.98±1.86

Timp incubare (min)	Concentrația REtOH80 (μg/L)						
	391	781	1,563	3,125	6,250	12,500	25,000
	Inhibiția ABTS (X±DS, %)						
0	6.35±2.2	18.74±1.92	35.63±2.53	47.61±1.93	74.51±3.05	62.83±4.43	48.89±6.45
15	11.67±3.69	42.38±2.79	72.36±2.66	83.29±2.73	77.36±3.38	54.15±7.15	43.33±0.74
30	12.68±4.37	48.36±3.06	80.82±3.07	83.01±2.04	76.19±3.42	51.84±6.53	42.15±3.51

Tabelul 18. **Influența extractelor din TO asupra capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și a activității medii a antioxidanților (X±DS)**

Extract	TAC (u/c)		MSA (u/c)		AMA (u/c)	
	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF
FDMSO	12.48±0.07	13.16±0.39	1.73±0.09	1.75±0.04	7.22±0.31	7.51±0.04
	+5.5% (p=0.05)		+1.2% (p=0.83)		+4% (p=0.28)	
FEtOH20	12.86±0.68	12.70±0.35	1.70±0.05	1.75±0.11	7.56±0.17	7.27±0.26
	-1.3% (p=0.83)		+2.9% (p=0.83)		-3.8% (p=0.13)	
FEtOH50	12.74±0.29	12.73±0.06	1.67±0.00	1.68±0.00	7.58±0.18	7.56±0.04
	-0.1% (p=0.83)		+0.2% (p=0.05)		-0.3% (p=0.83)	
FEtOH80	13.53±0.24	13.10±0.20	1.67±0.01	1.67±0.00	8.09±0.14	7.87±0.09
	-3.2% (p=0.13)		-0.4% (p=0.28)		-2.8% (p=0.13)	
RDMSO	12.51±0.77	12.49±0.47	1.66±0.07	1.65±0.02	7.52±0.15	7.57±0.23
	-0.1% (p=0.9)		-0.9% (p=0.56)		+0.8% (p=0.77)	
REtOH20	11.67±0.12	12.16±0.21	1.64±0.00	1.65±0.01	7.14±0.05	7.35±0.10
	+4.2% (p=0.05)		+1.2% (p=0.05)		+3% (p=0.05)	
REtOH50	12.48±0.07	12.46±0.13	1.73±0.09	1.69±0.01	7.22±0.31	7.38±0.10
	-0.1% (p=0.83)		-2.5% (p=0.51)		+2.2% (p=0.51)	
REtOH80	12.74±0.29	12.80±0.24	1.68±0.00	1.67±0.00	7.58±0.18	7.68±0.15
	+0.5% (p=0.51)		-0.7% (p=0.05)		+1.2% (p=0.51)	

Notă: % indică cu cât diferă rezultatul comparativ cu proba martor. Concentrația extractelor:

FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L, FEtOH80 – 40,000 μg/L, RDMSO – 145,000 μg/L, REtOH20 – 95,000 μg/L, REtOH50 – 60,000 μg/L și REtOH80 – 50,000 μg/L.

Tabelul 19. Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra capacității antioxidante totale, masei substanțelor antioxidante și a activității medii a antioxidanților

Extractant	Indice	Unitatea de măsură	Frunze (mediana)	Rădăcini (mediana)	Sensul	Mann-Whitney U test (<i>p</i>)
DMSO	TAC	u/c	13.16	12.39	F>R	0.13
DMSO	MSA		1.75	1.65	F>R	0.05
DMSO	AMA		7.51	7.51	F=R	0.51
EtOH20	TAC		12.70	12.16	F>R	0.13
EtOH20	MSA		1.75	1.65	F>R	0.51
EtOH20	AMA		7.27	7.35	F<R	0.83
EtOH50	TAC		12.73	12.46	F>R	0.05
EtOH50	MSA		1.68	1.69	F<R	0.05
EtOH50	AMA		7.56	7.38	F>R	0.05
EtOH80	TAC		13.10	12.80	F>R	0.13
EtOH80	MSA		1.67	1.67	F=R	0.51
EtOH80	AMA		7.87	7.68	F>R	0.13

Notă: F– frunze, R – rădăcini.

Tabelul 20. Influența extractelor din TOF asupra indicilor stresului oxidativ

Denumirea	DAM ($\mu\text{M/gHb}$)		NOS ($\mu\text{M/L}$)		NO_2^- ($\mu\text{M/gHb}$)		NO_3^- ($\mu\text{M/gHb}$)		$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ($\mu\text{M/gHb}$)		$\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$	
	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF	Control	TOF
FDMSO	0.89±0.02	0.81±0.00	2.50±0.04	2.98±0.07	2.03±0.12	1.75±0.01	1.05±0.10	1.33±0.11	3.08±0.02	3.08±0.11	1.95±0.30	1.32±0.12
	-8.1% (p=0.05)		+19.2% (p=0.05)		-13.7% (p=0.05)		+26.7% (p=0.05)		+0.1% (p=0.83)		-32.4% (p=0.05)	
FEtOH20	0.70±0.03	0.70±0.00	2.38±0.03	2.15±0.06	1.88±0.27	1.84±0.10	0.80±0.22	1.02±0.16	2.68±0.05	2.86±0.07	2.63±1.06	1.87±0.39
	-0.3% (p=0.51)		-9.8% (p=0.05)		-2.1% (p=0.83)		+26.8% (p=0.28)		+6.5% (p=0.05)		-29% (p=0.28)	
FEtOH50	0.86±0.03	0.83±0.00	2.82±0.02	3.63±0.20	1.81±0.08	1.87±0.19	0.81±0.04	1.35±0.15	2.62±0.04	3.22±0.04	2.26±0.22	1.41±0.29
	-3.6% (p=0.05)		+28.6% (p=0.05)		+2.8% (p=0.83)		+67.7% (p=0.05)		+22.8% (p=0.05)		-37.5% (p=0.05)	
FEtOH80	0.80±0.00	0.88±0.01	2.75±0.12	2.77±0.08	1.87±0.21	1.51±0.05	0.71±0.14	1.28±0.02	2.59±0.07	2.79±0.03	2.79±0.83	1.18±0.06
	+9.6% (p=0.05)		+0.9% (0.83)		-19.5% (p=0.05)		+79.4% (p=0.05)		+7.7% (p=0.05)		-57.7% (p=0.05)	

Notă: Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH20 – 140,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH50 – 150,000 $\mu\text{g/L}$ și FEtOH80 – 40,000 $\mu\text{g/L}$.

Tabelul 21. Acțiunea extractelor din TOR asupra indicilor stresului oxidativ

Denumirea	DAM ($\mu\text{M/gHb}$)		NOS ($\mu\text{M/L}$)		NO_2^- ($\mu\text{M/gHb}$)		NO_3^- ($\mu\text{M/gHb}$)		$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ($\mu\text{M/gHb}$)		$\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$	
	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR	Control	TOR
RDMSO	0.70 \pm 0.05	0.75 \pm 0.04	2.39 \pm 0.07	2.57 \pm 0.12	1.90 \pm 0.31	1.84 \pm 0.10	0.75 \pm 0.23	0.92 \pm 0.20	2.65 \pm 0.10	2.76 \pm 0.24	2.79 \pm 1.23	2.07 \pm 0.53
	+7.3% (p=0.25)		+7.7% (p=0.04)		-3.2% (p=0.02)		+22.6% (p=0.15)		+4.1% (p=0.56)		-25.9% (p=0.56)	
REtOH20	0.86 \pm 0.03	0.97 \pm 0.00	2.60 \pm 0.02	2.52 \pm 0.00	2.32 \pm 0.14	2.05 \pm 0.04	0.75 \pm 0.08	1.10 \pm 0.10	3.08 \pm 0.06	3.15 \pm 0.06	3.13 \pm 0.51	1.87 \pm 0.20
	+13.4% (p=0.05)		-3.3% (p=0.05)		-12% (p=0.05)		+46.4% (p=0.05)		+2.3% (p=0.13)		-40.3% (p=0.05)	
REtOH50	0.89 \pm 0.02	0.97 \pm 0.02	2.50 \pm 0.04	3.24 \pm 0.05	2.03 \pm 0.12	1.72 \pm 0.02	1.05 \pm 0.10	1.36 \pm 0.02	3.08 \pm 0.02	3.08 \pm 0.00	1.95 \pm 0.30	1.26 \pm 0.03
	+9.7% (p=0.05)		+29.6% (p=0.05)		-15.2% (p=0.05)		+29.6% (p=0.05)		+0.2% (p=0.49)		-35.5% (p=0.05)	
REtOH80	0.86 \pm 0.03	0.92 \pm 0.03	2.82 \pm 0.02	2.81 \pm 0.09	1.81 \pm 0.08	1.70 \pm 0.21	0.81 \pm 0.04	1.51 \pm 0.25	2.62 \pm 0.04	3.21 \pm 0.04	2.26 \pm 0.22	1.18 \pm 0.33
	+6.6% (p=0.13)		-0.4% (p=0.83)		-6.3% (p=0.51)		+29.6% (p=0.05)		+22.4% (p=0.05)		-47.7% (p=0.05)	

Notă: Concentrația extractelor: RDMSO – 145,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH20 – 95,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH50 – 60,000 $\mu\text{g/L}$ și REtOH80 – 50,000 $\mu\text{g/L}$.

Tabelul 22. Diferența statistică dintre acțiunea TOF și TOR asupra markerilor stresului oxidativ

Extractant	Indice	Unitatea de măsură	Frunze (mediana)	Rădăcini (mediana)	Sensul	Mann-Whitney U test (p)
DMSO	DAM	μM/gHb	0.81	0.77	F>R	0.05
DMSO	NOs	μM/L	2.98	2.58	F>R	0.05
DMSO	NO ₂	μM/gHb	1.75	1.81	F<R	0.05
DMSO	NO ₂ /NO ₃		1.32	1.88	F<R	0.05
DMSO	NO ₂ NO ₃ total	μM/gHb	3.08	2.75	F>R	0.05
DMSO	NO ₃	μM/gHb	1.33	0.99	F>R	0.05
EtOH20	DAM	μM/gHb	0.70	0.97	F<R	0.05
EtOH20	NOs	μM/L	2.15	2.52	F<R	0.05
EtOH20	NO ₂	μM/gHb	1.84	2.05	F<R	0.05
EtOH20	NO ₂ /NO ₃		1.87	1.87	F=R	0.83
EtOH20	NO ₂ NO ₃ total	μM/gHb	2.86	3.15	F<R	0.05
EtOH20	NO ₃	μM/gHb	1.02	1.10	F<R	0.51
EtOH50	DAM	μM/gHb	0.83	0.97	F<R	0.05
EtOH50	NOs	μM/L	3.63	3.24	F>R	0.05
EtOH50	NO ₂	μM/gHb	1.87	1.72	F>R	0.51
EtOH50	NO ₂ /NO ₃		1.41	1.26	F>R	0.51
EtOH50	NO ₂ NO ₃ total	μM/gHb	3.22	3.08	F>R	0.04
EtOH50	NO ₃	μM/gHb	1.35	1.36	F<R	0.83
EtOH80	DAM	μM/gHb	0.88	0.92	F<R	0.13
EtOH80	NOs	μM/L	2.77	2.81	F<R	0.51
EtOH80	NO ₂	μM/gHb	1.51	1.70	F<R	0.28
EtOH80	NO ₂ /NO ₃		1.18	1.18	F=R	0.83
EtOH80	NO ₂ NO ₃ total	μM/gHb	2.79	3.21	F<R	0.05
EtOH80	NO ₃	μM/gHb	1.28	1.51	F<R	0.51

Notă: F – frunze, R – rădăcini.

Tabelul 23. Activitatea antiradicalică a extractelor din TO în funcție de concentrația compușilor

Extractul	Diluția TO (µg/L)	Inhibiția ABTS (%)				Compuși chimici (mg/mL)						
		0 min	15 min	30 min	Media	CTF	CTP	Fitoșteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
FDMSO	55,000	59.30	58.86	55.25	57.80	0.14	3.82	0.1	1.57	1.12	0.04	0.2
FDMSO	27,500	70.28	69.20	62.52	67.33	0.07	1.91	0.05	0.78	0.56	0.02	0.1
FDMSO	13,750	75.63	77.29	78.52	77.14	0.03	0.95	0.03	0.39	0.28	0.01	0.05
FDMSO	6,875	84.95	83.91	82.11	83.66	0.02	0.48	0.01	0.2	0.14	0.005	0.03
FDMSO	3,438	86.81	89.74	88.08	88.21	0.01	0.24	0.01	0.1	0.07	0.002	0.01
FDMSO	1,719	41.41	69.67	81.69	64.26	0.004	0.12	0.003	0.05	0.04	0.001	0.01
FDMSO	859	16.91	31.68	37.92	28.84	0.002	0.06	0.002	0.02	0.02	0.001	0.003
FEtOH20	70,000	77.91	86.27	84.05	82.74	1.61	10.99	5.92	0.39	4.17	0.15	0.9
FEtOH20	35,000	88.84	85.92	83.57	86.11	0.81	5.5	2.96	2.96	2.08	0.08	0.45
FEtOH20	17,500	90.48	89.01	87.36	88.95	0.4	2.75	1.48	1.48	1.04	0.04	0.23
FEtOH20	8,750	89.78	87.27	85.08	87.38	0.2	1.37	0.74	0.74	0.52	0.02	0.11
FEtOH20	4,375	89.54	89.32	88.00	88.95	0.1	0.69	0.37	0.37	0.26	0.01	0.06
FEtOH20	2,188	66.90	87.41	84.23	79.51	0.05	0.34	0.18	0.18	0.13	0.005	0.03
FEtOH20	1,094	25.10	47.64	58.87	43.87	0.03	0.17	0.09	0.09	0.07	0.002	0.01
FEtOH50	75,000	72.44	34.15	10.71	39.1	2.36	14.25	0.94	9.15	6.56	0.22	1.06
FEtOH50	37,500	79.90	49.04	12.23	47.06	1.18	7.13	0.47	4.58	3.28	0.11	0.53
FEtOH50	18,750	82.90	59.13	44.00	62.01	0.59	3.56	0.24	2.29	1.64	0.05	0.26
FEtOH50	9,375	83.78	64.80	30.64	59.74	0.3	1.78	0.12	1.14	0.82	0.03	0.13
FEtOH50	4,688	87.09	71.96	39.00	66.02	0.15	0.89	0.06	0.57	0.41	0.01	0.07

Tabelul 23. Continuare

Extractul	Diluția TO (µg/L)	Inhibiția ABTS (%)				Compuși chimici (mg/mL)						
		0 min	15 min	30 min	Media	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
FEtOH50	2,344	86.41	68.71	33.06	62.72	0.07	0.45	0.03	0.29	0.21	0.01	0.03
FEtOH50	1,172	63.48	66.56	28.19	52.74	0.04	0.22	0.01	0.14	0.1	0.003	0.02
FEtOH80	20,000	44.15	33.10	40.92	39.39	0.65	1.15	0.23	0.25	0.11	0.01	0.01
FEtOH80	10,000	56.58	50.27	53.08	53.31	0.33	0.58	0.12	0.12	0.06	0.01	0.004
FEtOH80	5,000	73.48	70.61	74.99	73.03	0.16	0.29	0.06	0.06	0.03	0.004	0.002
FEtOH80	2,500	68.08	75.40	79.63	74.37	0.08	0.14	0.03	0.03	0.01	0.002	0.001
FEtOH80	1,250	45.66	83.67	87.61	72.31	0.04	0.07	0.01	0.02	0.01	0.001	0.001
FEtOH80	625	24.27	54.54	62.23	47.01	0.02	0.04	0.01	0.01	0.004	0.0004	0.0003
FEtOH80	312,5	7.59	14.81	16.67	13.02	0.01	0.02	0.004	0.004	0.002	0.0002	0.0001
RDMSO	72,500	64.20	91.94	91.80	82.65	0.22	1.46	0.12	0.19	0.14	0.02	0.02
RDMSO	36,250	66.87	91.90	91.61	83.46	0.11	0.73	0.06	0.1	0.07	0.01	0.01
RDMSO	18,125	46.31	82.07	90.45	72.94	0.05	0.37	0.03	0.05	0.03	0.005	0.004
RDMSO	9,063	28.64	55.99	63.76	49.46	0.03	0.18	0.02	0.02	0.02	0.002	0.002
RDMSO	4,531	12.47	29.40	35.68	25.85	0.01	0.09	0.01	0.01	0.01	0.001	0.001
RDMSO	2,266	7.53	9.71	14.54	10.59	0.01	0.05	0.004	0.01	0.004	0.001	0.001
RDMSO	1,133	4.64	1.47	1.80	2.63	0.003	0.02	0.002	0.003	0.002	0.0003	0.0003
REtOH20	47,500	89.77	85.84	85.93	87.18	0.41	0.48	0.2	0.14	0.08	0.01	0.07
REtOH20	23,750	75.74	88.48	87.74	83.98	0.21	0.24	0.1	0.1	0.04	0.01	0.03
REtOH20	11,875	52.96	80.14	86.38	73.16	0.1	0.12	0.05	0.05	0.02	0.003	0.02

Tabelul 23. Continuare

Extractul	Diluția TO (µg/L)	Inhibiția ABTS (%)				Compuși chimici (mg/mL)						
		0 min	15 min	30 min	Media	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
REtOH20	5,938	23.29	32.82	45.78	33.96	0.05	0.06	0.02	0.02	0.01	0.002	0.01
REtOH20	2,969	4.51	2.13	27.59	11.41	0.03	0.03	0.01	0.01	0.005	0.001	0.004
REtOH20	1,484	6.04	5.65	8.69	6.79	0.01	0.01	0.01	0.01	0.002	0.0004	0.002
REtOH20	742	1.89	20.20	3.71	8.6	0.01	0.01	0.003	0.003	0.001	0.0002	0.001
REtOH50	30,000	91.04	91.93	91.98	91.65	0.14	0.73	0.07	0.6	0.4	0.05	0.06
REtOH50	15,000	91.81	92.01	91.47	91.76	0.07	0.36	0.03	0.3	0.2	0.02	0.03
REtOH50	7,500	72.11	93.51	93.81	86.47	0.04	0.18	0.02	0.15	0.1	0.01	0.01
REtOH50	3,750	36.60	69.90	80.43	62.31	0.02	0.09	0.01	0.07	0.05	0.01	0.01
REtOH50	1,875	17.97	38.30	48.45	34.91	0.01	0.05	0.004	0.04	0.03	0.003	0.003
REtOH50	938	4.68	5.46	5.53	5.22	0.005	0.02	0.002	0.02	0.01	0.002	0.002
REtOH50	469	3.13	1.63	3.12	2.63	0.002	0.01	0.001	0.01	0.01	0.001	0.001
REtOH80	25,000	48.89	43.33	42.15	44.79	0.16	1.04	0.06	0.2	0.1	0.03	0.01
REtOH80	12,500	62.83	54.15	51.84	56.28	0.08	0.52	0.03	0.1	0.05	0.02	0.003
REtOH80	6,250	74.51	77.36	76.19	76.02	0.04	0.26	0.01	0.05	0.03	0.01	0.002
REtOH80	3,125	47.61	83.29	83.01	71.3	0.02	0.13	0.01	0.02	0.01	0.004	0.001
REtOH80	1,563	35.63	72.36	80.82	62.94	0.01	0.06	0.004	0.01	0.01	0.002	0.0004
REtOH80	781	18.74	42.38	48.36	36.5	0.005	0.03	0.002	0.01	0.003	0.001	0.0002
REtOH80	391	6.35	11.67	12.68	10.23	0.003	0.02	0.001	0.003	0.002	0.001	0.0001

Notă: CTF – conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli. Cu **bold** au fost selectate rezultatele minime și maxime a activității extractelor din TO.

Tabelul 24. Capacitatea antioxidantă totală (TAC), masa substanțelor antioxidante (MSA) și activitatea medie a antioxidantilor (AMA) în funcție de concentrația compușilor chimici testați

Extractul	Marker (u/c)			Compuși chimici (mg/mL)						
	TAC	MSA	AMA	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cioric	Acid clorogenic	Acid caftaric
FDMSO	13.16	1.75	7.51	0.5	13.88	0.38	11.4	8.16	0.29	1.48
FEtOH20	12.70	1.75	7.27	4.61	31.4	1.11	33.8	23.8	0.88	5.16
FEtOH50	12.73	1.68	7.56	6.3	38	2.51	48.8	35	1.16	5.64
FEtOH80	13.10	1.67	7.87	6.52	11.52	2.34	4.96	2.26	0.29	0.18
RDMSO	12.49	1.65	7.57	0.6	4.04	0.34	1.07	0.76	0.11	0.1
REtOH20	12.16	1.65	7.35	1.74	2	0.59	1.68	0.65	0.1	0.55
REtOH50	12.46	1.69	7.38	0.96	4.86	0.44	8	5.34	0.65	0.74
REtOH80	12.80	1.67	7.68	1.28	8.3	0.46	3.14	1.62	0.54	0.11

Notă: CTF - conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli. Cu **bold** au fost selectate rezultatele minime și maxime a activității extractelor din TO. Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 μg/L, FEtOH20 – 140,000 μg/L, FEtOH50 – 150,000 μg/L, FEtOH80 – 40,000 μg/L, RDMSO – 145,000 μg/L, REtOH20 – 95,000 μg/L, REtOH50 – 60,000 μg/L și REtOH80 – 50,000 μg/L.

Tabelul 25. Valoarea markerilor stresului oxidativ în raport de concentrația compușilor chimici testați

Extractul	Marker						Compuși chimici (mg/mL)						
	DAM ($\mu\text{M/gHb}$)	NOS ($\mu\text{M/L}$)	NO_2^- ($\mu\text{M/gHb}$)	NO_3^- ($\mu\text{M/gHb}$)	$\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ($\mu\text{M/gHb}$)	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
FDMSO	0.81	2.98	1.75	1.33	1.32	3.08	0.5	13.88	0.38	11.4	8.16	0.29	1.48
FEtOH20	0.70	2.15	1.84	1.02	1.87	2.86	4.61	31.4	1.11	33.8	23.8	0.88	5.16
FEtOH50	0.83	3.63	1.87	1.35	1.41	3.22	6.3	38	2.51	48.8	35	1.16	5.64
FEtOH80	0.88	2.77	1.51	1.28	1.18	2.79	6.52	11.52	2.34	4.96	2.26	0.29	0.18
RDMSO	0.75	2.57	1.84	0.92	2.07	2.76	0.6	4.04	0.34	1.07	0.76	0.11	0.1
REtOH20	0.97	2.52	2.05	1.10	1.87	3.15	1.74	2	0.59	1.68	0.65	0.1	0.55
REtOH50	0.97	3.24	1.72	1.36	1.26	3.08	0.96	4.86	0.44	8	5.34	0.65	0.74
REtOH80	0.92	2.81	1.70	1.51	1.18	3.21	1.28	8.3	0.46	3.14	1.62	0.54	0.11

Notă: CTF - conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli. Cu **bold** au fost selectate rezultatele minime și maxime a activității extractelor din TO. Concentrația extractelor: FDMSO – 110,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH20 – 140,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH50 – 150,000 $\mu\text{g/L}$, FEtOH80 – 40,000 $\mu\text{g/L}$, RDMSO – 145,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH20 – 95,000 $\mu\text{g/L}$, REtOH50 – 60,000 $\mu\text{g/L}$ și REtOH80 – 50,000 $\mu\text{g/L}$.

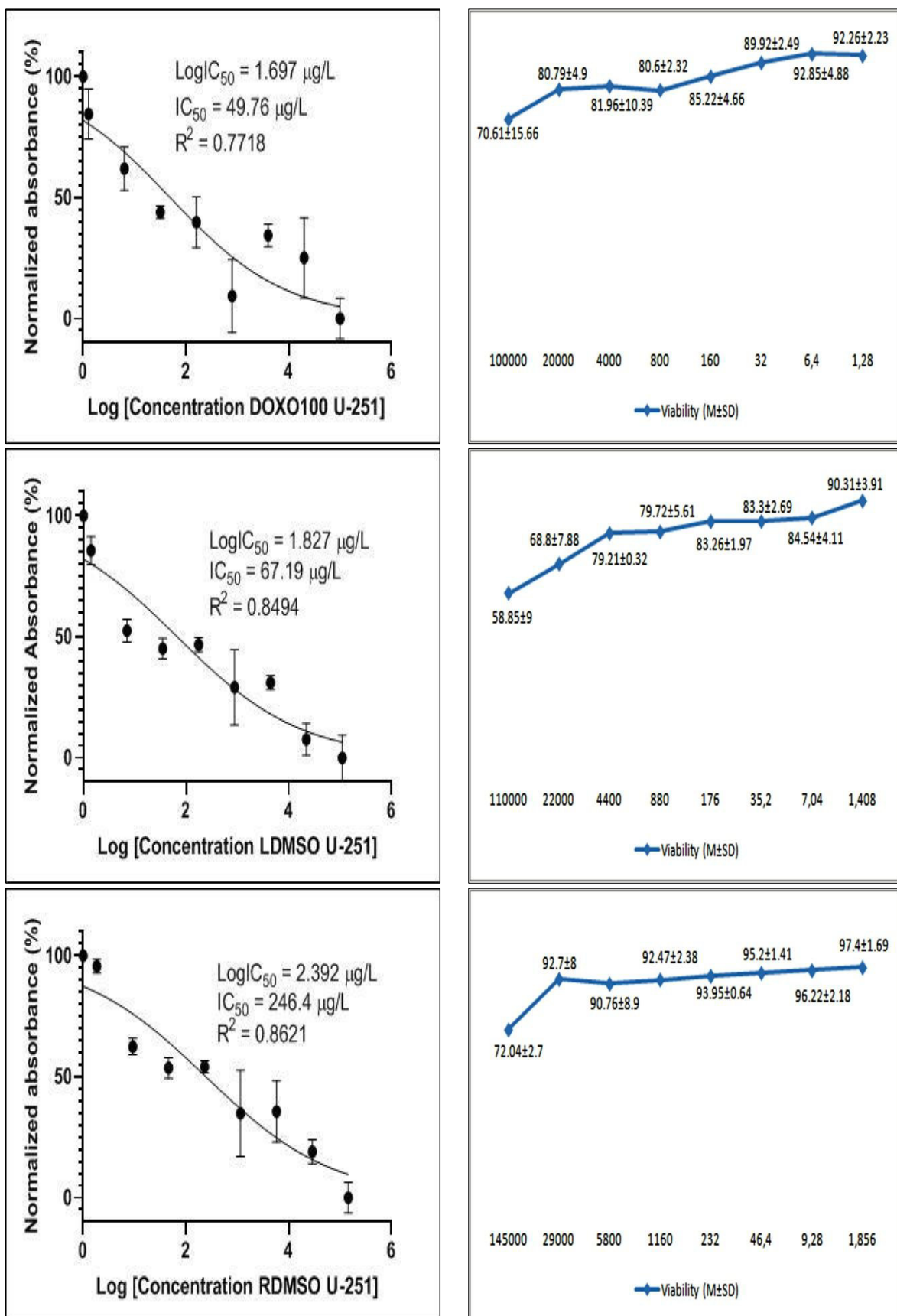


Figura 20. Activitatea antitumorală (U-251 MG) a Doxorubicinei, precum și a extractelor din frunze și rădăcini de TO pe DMSO [220]

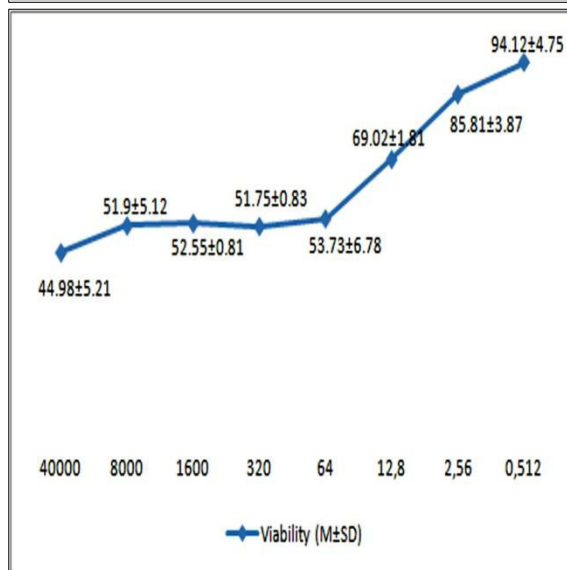
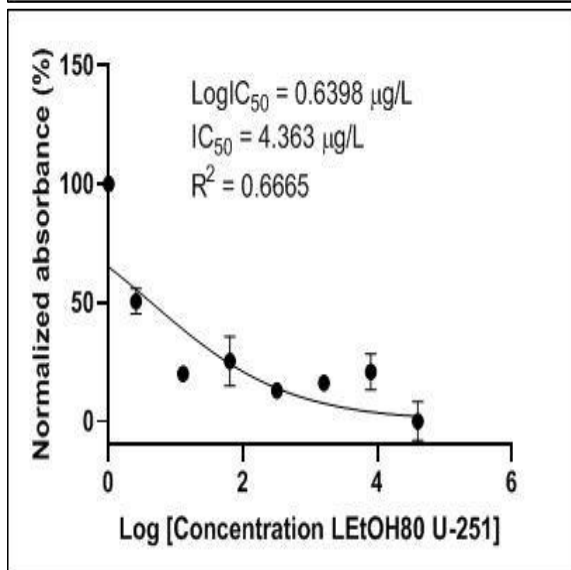
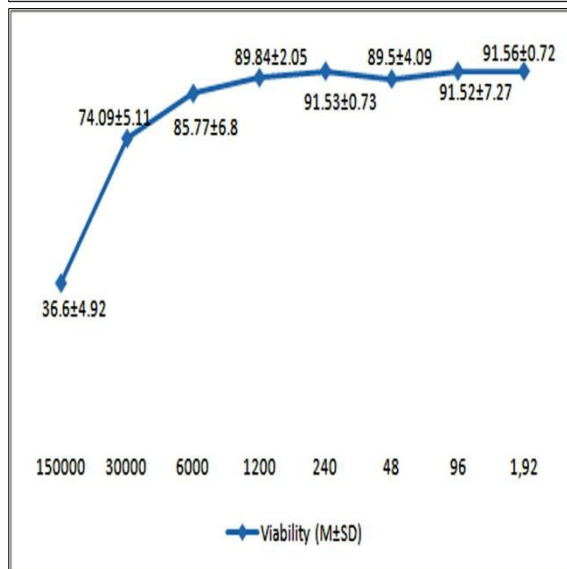
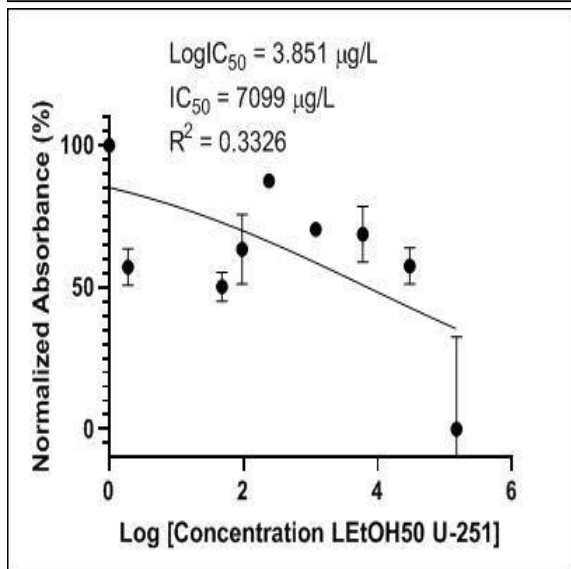
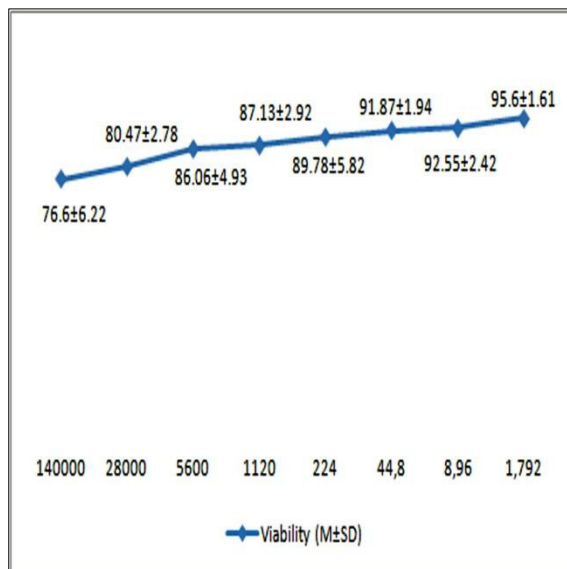
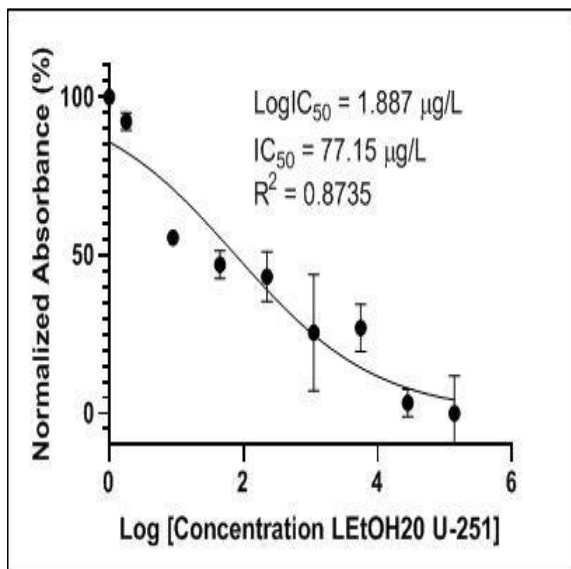


Figura 21. Acțiunea extractelor foliare din TO pe etanol de diverse concentrații asupra viabilității celulelor U-251 MG [220]

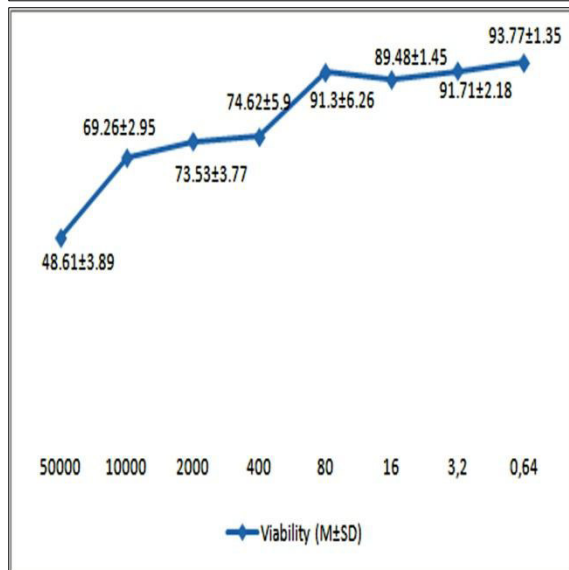
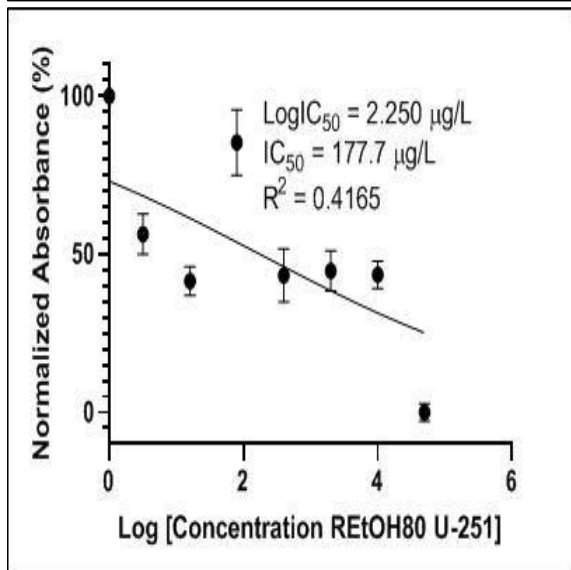
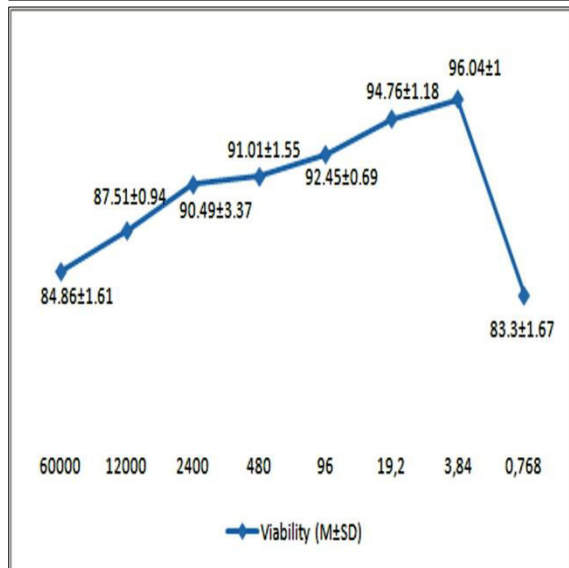
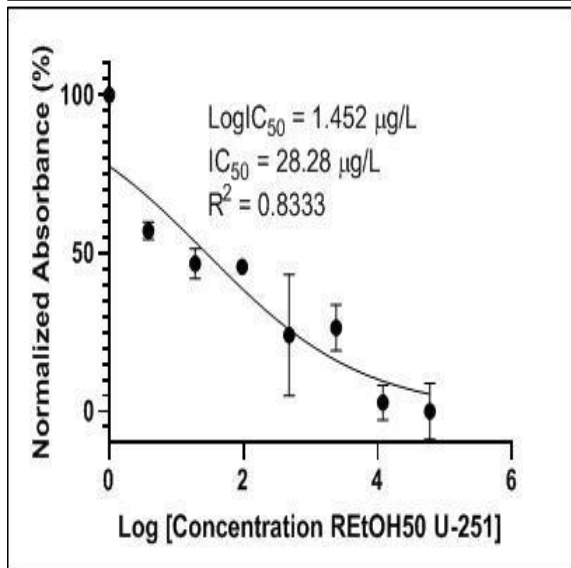
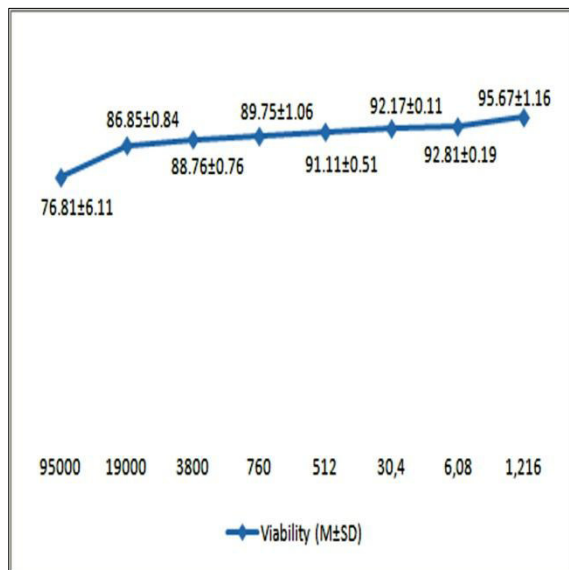
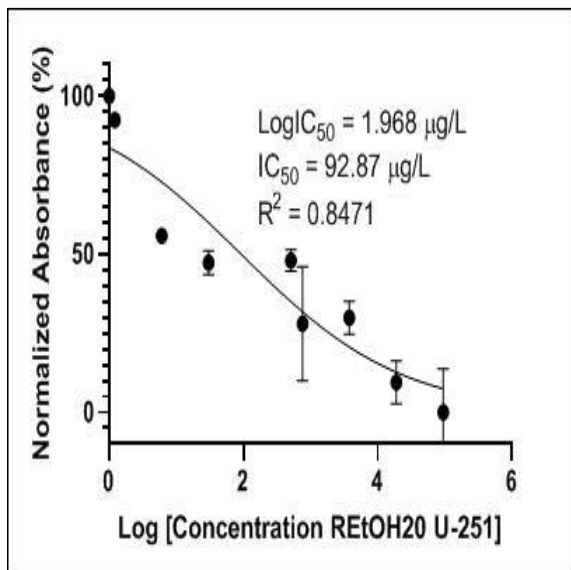


Figura 22. Acțiunea extractelor etanolice din rădăcini de TO asupra viabilității celulelor tumorale U-251 MG [220]

Tabelul 26. Activitatea antitumorală a extractelor din TO în funcție de concentrația compușilor

Extractul	Diluția (μg/L)	MTT	Resazurina	Compuși chimici (mg*10 ⁶ /mL)						
		u251	u251	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
		Viabilitatea (Media)								
FDMSO	110,000	58.85	6.15	550	15,268	1,628	12,540	316.8	316.8	8,976
FDMSO	22,000	68.8	57.72	110	3,053.6	325.6	2,508	63.4	63.4	1,795.2
FDMSO	4,400	79.21	83.31	22	610.7	65.1	501.6	12.7	12.7	359
FDMSO	880	79.72	85.52	4.4	122.1	13	100.3	2.5	2.5	71.8
FDMSO	176	83.26	84.26	0.9	24.4	2.6	20.1	0.5	0.5	14.4
FDMSO	35.2	83.3	87.78	0.2	4.9	0.5	4	0.1	0.1	2.9
FDMSO	7.04	84.54	88.55	0.04	0.98	0.1	0.8	0.02	0.02	0.57
FDMSO	1.408	90.31	90.98	0.01	0.2	0.02	0.16	0.004	0.004	0.11
FEtOH20	140,000	76.6	54.95	6,454	43,960	7,224	47,320	1,232	1232	33,320
FEtOH20	28,000	80.47	76.48	1,290.8	8,792	1,444.8	9,464	246.4	246.4	6,664
FEtOH20	5,600	86.06	85	258.2	1,758.4	289	1,892.8	49.3	49.3	1,332.8
FEtOH20	1,120	87.13	85.08	51.6	351.7	57.8	378.6	9.9	9.9	266.6
FEtOH20	224	89.78	82.59	10.3	70.3	11.6	75.7	2	2	53.3
FEtOH20	44.8	91.87	86.94	2.1	14.1	2.3	15.1	0.4	0.4	10.7
FEtOH20	8.96	92.55	94.9	0.4	2.8	0.5	3.03	0.08	0.08	2.1
FEtOH20	1.792	95.6	99.74	0.1	0.6	0.09	0.6	0.02	0.02	0.4

Tabelul 26. Continuare

Extractul	Diluția (μg/L)	MTT	Resazurina	Compuși chimici (mg*10 ⁶ /mL)						
		u251	u251	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicori ci	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
		Viabilitatea (Media)								
FEtOH50	150,000	36.6	79.96	9,450	57,000	8,460	73,200	1,746	1,746	52,500
FEtOH50	30,000	74.09	88.02	1,890	11,400	753	14,640	10,500	349.2	1,692
FEtOH50	6,000	85.77	84.83	378	2,280	150.6	2,928	2,100	69.8	338.4
FEtOH50	1,200	89.84	88.69	75.6	456	30.1	585.6	420	14	67.7
FEtOH50	240	91.53	97.76	15.1	91.2	6	117.1	84	2.8	13.5
FEtOH50	48	89.5	95.11	3	18.2	1.2	23.4	16.8	0.6	2.7
FEtOH50	96	91.52	97.67	6	36.5	2.4	46.8	33.6	1.1	5.4
FEtOH50	1.92	91.56	96.71	0.1	0.7	0.05	0.9	0.7	0.02	0.1
FEtOH80	40,000	44.98	26.39	2,608	4,608	936	1,984	904	114.4	70.4
FEtOH80	8,000	51.9	75.19	521.6	921.6	187.2	396.8	180.8	22.9	14.1
FEtOH80	1,600	52.55	78.71	104.3	184.3	37.4	79.4	36.2	4.6	2.8
FEtOH80	320	51.75	81.15	20.9	36.9	7.5	15.9	7.2	0.9	0.6
FEtOH80	64	53.73	80.29	4.2	7.4	1.5	3.2	1.4	0.2	0.1
FEtOH80	12.8	69.02	84.91	0.8	1.5	0.3	0.6	0.3	0.04	0.02
FEtOH80	2.56	85.81	85.17	0.2	0.3	0.1	0.1	0.1	0.01	0.005
FEtOH80	0.512	94.12	85.97	0.03	0.1	0.01	0.03	0.01	0.001	0.001

Tabelul 26. Continuare

Extractul	Diluția TO (μg/L)	MTT	Resazurina	Compuși chimici (mg*10 ⁶ /mL)						
		u251	u251	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
		Viabilitatea (Media)								
RDMSO	145,000	72.04	16.42	870	5,858	493	1,557.3	1,096.2	159.5	139.2
RDMSO	29,000	92.7	34.64	174	1,171.6	98.6	311.5	219.2	31.9	27.8
RDMSO	5,800	90.76	66.84	34.8	234.3	19.7	62.3	43.8	6.4	5.6
RDMSO	1,160	92.47	81.15	7	46.9	3.9	12.5	8.8	1.3	1.1
RDMSO	232	93.95	83.08	1.4	9.4	0.8	2.5	1.8	0.3	0.2
RDMSO	46.4	95.2	84.72	0.3	1.9	0.2	0.5	0.4	0.1	0.04
RDMSO	9.28	96.22	89.44	0.1	0.4	0.03	0.1	0.1	0.01	0.01
RDMSO	1.856	97.4	94.01	0.01	0.1	0.01	0.02	0.01	0.002	0.002
REtOH20	95,000	76.81	65.32	1653	1900	560.5	1596	615.6	98.8	524.4
REtOH20	19,000	86.85	58.34	330.6	380	112.1	319.2	123.1	19.8	104.9
REtOH20	3,800	88.76	60.76	66.1	76	22.4	63.8	24.6	4	21
REtOH20	760	89.75	64.97	13.2	15.2	4.5	12.8	4.9	0.8	4.2
REtOH20	512	91.11	68.09	8.9	10.2	3	8.6	3.3	0.5	2.8
REtOH20	30.4	92.17	68.1	0.5	0.6	0.2	0.5	0.2	0.03	0.2
REtOH20	6.08	92.81	73.78	0.1	0.1	0.04	0.1	0.04	0.01	0.03
REtOH20	1.216	95.67	86.66	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.001	0.01

Tabelul 26. Continuare

Extractul	Diluția TO (µg/L)	MTT	Resazurina	Compuși chimici (mg*10 ⁶ /mL)						
		u251	u251	CTF	CTP	Fitosteroli	Acizi hidroxicorici	Acid cicoric	Acid clorogenic	Acid caftaric
		Viabilitatea (Media)								
REtOH50	60,000	84.86	10.83	576	2,916	264	4,797.6	3,206.4	388.8	446.4
REtOH50	12,000	87.51	70.55	115.2	583.2	52.8	959.5	641.3	77.8	89.3
REtOH50	2,400	90.49	74.34	23	116.6	10.6	191.9	128.3	15.6	17.9
REtOH50	480	91.01	77.95	4.6	23.3	2.1	38.4	25.7	3.1	3.6
REtOH50	96	92.45	75.38	0.9	4.7	0.4	7.7	5.1	0.6	5.1
REtOH50	19.2	94.76	76.67	0.2	0.9	0.1	1.5	1	0.1	1
REtOH50	3.84	96.04	86.41	0.04	0.2	0.02	0.3	0.2	0.02	0.2
REtOH50	0.768	83.3	97.29	0.01	0.04	0.003	0.1	0.04	0.005	0.04
REtOH80	50,000	48.61	37.6	640	4,150	230	1,570	810	269	810
REtOH80	10,000	69.26	61.59	128	830	46	314	162	53.8	162
REtOH80	2,000	73.53	68.84	25.6	166	9.2	62.8	32.4	10.8	32.4
REtOH80	400	74.62	74.23	5.1	33.2	1.8	12.6	6.5	2.2	6.5
REtOH80	80	91.3	76.89	1	6.6	0.4	2.5	1.3	0.4	1.3
REtOH80	16	89.48	83.75	0.2	1.3	0.1	0.5	0.3	0.1	0.3
REtOH80	3.2	91.71	79.33	0	0.3	0.01	0.1	0.1	0	0.1
REtOH80	0.64	93.77	86.03	0	0.1	0.003	0.02	0.01	0.003	0.01

Notă: CTF - conținutul total de flavonoizi, CTP – conținutul total de polifenoli.

Cu **bold** au fost selectate rezultatele minime și maxime a activității extractelor din TO.

INFORMAȚII PRIVIND VALORIFICAREA REZULTATELOR CERCETĂRII

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE

la care au fost prezentate rezultatele cercetărilor la teza de doctor în științe medicale cu tema „Activitatea biochimică a extractelor din specia *Taraxacum officinale* G. H. Weber ex Wiggers”, realizată în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinic, Laboratorului de biochimie a dnei **Fulga Ala**, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**

- ✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale**

1. **Fulga A.**, Todiras M., Gudumac V., Tagadiuc O. Taraxacum Officinale Leaves and Roots Suppress Glioma Cell Viability. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2022; 10(3): pp. 175-189. ISSN 2327-5081 (Print). ISSN 2327-509X (Online). Disponibil la: <https://www.scirp.org/journal/jbm> (**ULRICH'S**, GIF: 0,85).
2. **Fulga A.**, Protopop S., Gudumac V., Tagadiuc O. Taraxacum Officinale Roots acts as a powerful antioxidant. *Research and Clinical Medicine Journal*. 2022; volumul VI, Issue 2, pp.1-5. Disponibil la: https://www.resclinmed.eu/public/data_files/articles/152/article_152.pdf (**DOAJ, IC**).
3. **Fulga A.**, Protopop S., Gudumac V., Todiras M., Tagadiuc O. Dandelion suppresses glioblastoma – another assessment with the same result. *Herba Polonica*. 2023; acceptat pe 22.01.2023) (**Scopus, în proces de publicare**).
4. **Fulga A.**, Gudumac V., Todiras M., Tagadiuc O. Can Dandelion's phenolic compounds suppress glioblastoma cells viability? *Archives of the Balkan Medical Union*. 2023; vol. 58, no. 1, pp. 8-17, <https://doi.org/10.31688/ABMU.2023.58.1.01> (**Scopus**).
5. **Fulga A.**, Casian A., Casian I., Protopop S., Gudumac V., Tagadiuc O. Effects of Taraxacum Officinale on glioblastoma cell culture and their correlation with hydroxycinnamic acids content. *Medical Sciences Forum*. 2023. 3, x. <https://doi.org/10.3390/ECB2023-14363> (registering DOI) (**DOAJ**).

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

- ✓ **articole în reviste de categoria B**

6. **Fulga A.**, Tagadiuc O., Todiras M., Gudumac V. The action of Taraxacum Officinale extracts on thiols content. *MJHS Moldovan Journal of Health Sciences / Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2021; 26(1): pp. 6-16. ISSN 2345-1467.
7. **Fulga A.**, Protopop S., Andronache L., Tagadiuc O., The modulototy action of Taraxacum Officinale on the glutathione system. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2022; 3(74): pp. 235-241. ISSN 1857-0011 <https://doi.org/10.52692/1857-0011>.

- **Articole în lucrările conferințelor științifice:**

- ✓ **naționale cu participare internațională**

8. **Fulga A.** Taraxacum officinale – a promising source of clorogenic acid. *International Scientific Conference „Actual Issues of Morphology” dedicated to the 75th anniversary*

of „N. Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy. Chișinău, 2020, pp. 52-54. ISBN 978-9975-57-281-1.

- ✓ **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale**
9. **Fulga A.**, Pantea V., Gudumac V., Toderaș M., Tagadiuc O. Determinarea conținutului total de polifenoli în pădăie. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2020, p. 664.
 10. **Fulga A.** The impact of Taraxacum Officinale extracts on erythrocytes glutathione reductase activity. *Научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ)*. Минск, Беларусь, 2021, pp. 2098-2100. ISBN 978-985-21-0904-8.
 11. **Fulga A.** The action of Taraxacum Officinale extracts on thiols content. În: *Conferința științifică anuală Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță USMF „N. Testemițanu”*. Chișinău, 2021, p. 29. ISBN 978-9975-82-223-7.
 12. Protopop S., **Fulga A.** The erythrocytes' catalase activity is influenced by Taraxacum Officinale. În: *Conferința științifică anuală Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță USMF „N. Testemițanu”*. Chișinău, 2021, p. 40. ISBN 978-9975-82-223-7.
 13. **Fulga A.**, Pantea V. Antioxidant activity of Taraxacum Officinale. In: *The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors USMF „N. Testemițanu”*. Chișinău, 2020, pp. 267-268.
 14. **Fulga A.**, Tagadiuc O., Gudumac V. Taraxacum Officinale acts as a powerful antioxidant. In: *The 7th International Conference Ecological & Environmental Chemistry*. Chisinau, 2022, p. 40. EEC-2022 Abstract Book, Volume 1, DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/eec.2022.v1>.
 15. **Fulga A.**, Pantea V., Protopop S., Tagadiuc O., Andronache L. The thiol/disulphide homeostasis is influenced by Taraxacum Officinale. In: *Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine. Materials of the V International Scientific and Practical Conference*. Kharkiv, Ukraine, 2021, pp. 44-45.
 16. **Fulga A.**, Pantea V., Tagadiuc O., Gudumac V. The erythrocytes glutathione reductase activity is influenced by roots extracts of Taraxacum officinale. In: *Middle East International Conference on contemporary scientific studies-V*. Ankara, Turkey, 2021, pp. 397-398. ISBN-978-625-7898-38-6.
 17. **Fulga A.**, Pantea V. The antioxidant activity of Taraxacum Officinale. „*Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering-NanoBioMat 2021*”. Bucharest, Romania, 2021, p. 83.
 18. **Fulga A.** Poliphenols content in roots of Taraxacum Officinale. In: *IV International Icontech Symposium on Innovative Surveys in Positive Sciences*. Adana, Turkey, 2021, p. 87. ISBN 978-1-955094-09-2.
 19. **Fulga A.** The influence of Taraxacum Officinale extracts on erythrocytes superoxide dismutase activity. In: *Euroasia International Congress on Scientific Research and Recent Trends - VIII*. Philippine Merchant Marine Academy, Zambale, Philippines, 2021, p. 133. ISBN 978-195509415-3.
 20. **Fulga A.** The nitric oxide synthase activity is influenced by Taraxacum Officinale. In: *2. International Scientific Research and Innovation Congress*. Istanbul, Turkey, 2021, p. 376. ISBN 978-625-8007-16-9.
 21. **Fulga A.**, Protopop S., Tagadiuc O., Gudumac V. The amount of erythrocytes malondialdehyde is influenced by Taraxacum Officinale. In: *International Harran Health Sciences Congress-III*. Harran University, Sanlurfa, Turkey, 2021, p. 411. ISBN - 978-625-7464-33-8.

22. **Fulga A.** The Influence Of Taraxacum Officinale On Rbc's Nitrate and Nitrite Content. In: *3rd International Cukurova Agriculture and Veterinary Congress*. Adana, Turkey, 2021, p. 76. ISBN 978-625-7464-28-4.
23. **Fulga A., Coretchi A.** Taraxacum Officinale is a promising source of hydroxycinnamic acid derivatives. In: *4th International African Conference on Current Studies*. Bani Waleed University, Libya, 2021, p. 362. ISBN 978-625-7464-39-0.
24. **Fulga A.** The Modulatory Action of Taraxacum Officinale on Superoxide Dismutase and Catalase Activity. In: *International Anatolian Congress on Medicinal and Aromatic Plants*. Arapgir Municipality, Malatya, Turkey, 2021, p. 27. ISBN 978-625-8061-99-4.
25. **Fulga A.** Dose and Time Dependent Antioxidant Activity of Taraxacum Officinale. In: *3.Uluslararası Palandöken Bilimsel Çalışmalar Kongresi*. Erzurum, Turkey, 2021, p. 537. ISBN 978-625-8061-24-6.
26. **Fulga A.** Concentration and Time Dependent Antioxidant Activity of Taraxacum Officinale Roots. In: *3.International Gobekli-tepe Scientific Studies Congress*. Şanlıurfa, Turkey, 2021, p. 188. ISBN 978-625-8061-81-9.
27. **Fulga A.** Taraxacum Officinale leaves acts as effective inhibitors of oxidation. In: *International Modern Scientific Research Congress – II*. Istanbul, Turkey, 2021, p. 587. ISBN 978-625-8061-98-7.
28. **Fulga A.** ABTS Scavenging Activity of *Taraxacum Officinale* roots. In: *ISPEC 8th International Conference on Agriculture, Animal Science and Rural Development*. Bingöl, Turkey, 2021, p. 115. ISBN 978-625-7720-68-7.
29. **Fulga A.** Taraxacum Officinale Roots Good Sources of Coffee. In: *2nd International Conference on Coffee and Cocoa*. Bogota, Colombia, 2022, p. 128. ISBN 978-625-7464-83-3.
30. **Fulga A.** Determination of Total Flavonoids Content in Taraxacum Officinale from Roots. In: *Cukurova 8th International Scientific Researches Conference*. Adana, Turkey, 2022, p. 122. ISBN 978-625-8377-45-30.
31. **Fulga A.** Taraxacum Officinale Leaves are Promising Source of Flavonoids. In: *Tashkent Ist-International Congress on Modern Sciences Tashkent Chemical-Technological Institute*. Tashkent, Uzbekistan, 2022.
32. **Fulga A.** Dandelion Suppresses Glioblastoma Cell Line U-251 MG Viability. In: *Hodja Akhmet Yassawi 6th International Conference on Scientific Research*. Lankaran, Azerbaijan, 2022, p. 172. ISBN 978-625-7464-86-4.
33. **Fulga A.** Taraxacum Officinale Roots Suppresses Glioblastoma Cell Line U-138 MG Viability. *2. International Dicle Scientific Studies and Innovation Congress*. Diyarbakir, Turkey, 2022, p. 135. ISBN 978-625-8377-76-7.
34. **Fulga A., Pantea V.** Determination of Total Polyphenols Content in Taraxacum Officinale Leaves. In: *Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering-NanoBioMat 2022*. Bucharest, Romania, 2022, p. 53.
35. **Fulga A., Pantea V.** The Chicoric acid of Taraxacum Officinale roots can be involved in the treatment of glioblastoma. In: *Chimia ecologică și a mediului. Ediția XX-a*. Chisinau, 2022, pp. 34-35. ISBN 978-9975-62-467-1
36. **Fulga A., Pantea V.** Chicoric acid of Taraxacum Officinale leaves as a potential agent against glioblastoma. In: *Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering-NanoBioMat 2022*. Bucharest, Romania, 2022, pp. 70-71.
37. **Fulga A., Todiras M., Casian A., Casian I., Gudumac V., Tagadiuc O.** Dandelion's active components suppress glioblastoma U-138 MG cells viability. In: *RSU RESEARCH WEEK/Knowledge for use in practice*. Riga, Latvia, 27-31 March, 2023. <http://rw2023.rsu.lv/>.
38. **Fulga A., Casian A., Casian I., Protopop S., Gudumac V., Tagadiuc O.** Effects of Taraxacum Officinale on glioblastoma cell culture and their correlation with

hydroxycinnamic acids content. In: *The 2nd International Electronic Conference on Biomedicines/ Medicinally Active Plants and Phytochemicals*. Switzerland, 01-31 March, 2023. <https://ecb2023.sciforum.net/#session2626>

- **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții**
 39. **Fulga A.**, Pantea V., Andronache L., Tagadiuc O., Gudumac, V. Metodă de dozare a conținutului de compuși fenolici. Certificat de inovator nr. 5852 din 08.06.2021.
 40. **Fulga A.**, Pantea V., Andronache L., Tagadiuc O., Gudumac, V. Metodă de dozare a conținutului total de flavonoizi. Certificat de inovator nr. 5853 din 08.06.2021.
 41. **Fulga A.**, Pantea V., Andronache L. Procedeu de dozare a β -sitosterolului și a derivaților lui. Certificat de inovator nr. 5961 din 24.10.2022.
 42. **Fulga Ala.**, Tagadiuc Olga., Andronache Lilia. Metodă de apreciere a activității antiinflamatoare a substanțelor biologice active. CBSID nr. depozit s 2022 0085 din 2022.10.26 (în starea expertizei primare AGEPI).
 43. **Fulga Ala.** Antioxidant activity of Taraxacum Officinale. Medespera 2020 Chișinău, September 24-26, 2020. *The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors USMF „N. Testemițanu”*. (Diplomă locul III).
 44. **Ala Fulga**, Valeriana Pantea. Determination of Total Poliphenols Content in Taraxacum Officinale Leaves. NANOBIOMAT 2022, University POLITEHNICA of Bucharest, Romania, June 22 – 24, 2022.
- **Participări cu comunicări la forumuri științifice:**
 - ✓ **internaționale**
 45. **Fulga A.**, Pantea V. Antioxidant activity of Taraxacum Officinale. In: *The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors USMF „N. Testemițanu”*. Chișinău, 24-26 September, 2020.
 46. **Fulga Ala.** Taraxacum officinale – a promising source of chlorogenic acid. In: *International Scientific Conference „Actual Issues of Morphology” dedicated to the 75th anniversary of „N. Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy*. Chișinău, 30-31 October, 2021.
 47. **Fulga A.**, Pantea V., Protopop S., Tagadiuc O., Andronache L. The thiol/disulphide homeostasis is influenced by Taraxacum Officinale In: *Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine. Materials of the V International Scientific and Practical Conference*. Kharkiv, Ukraine, 11-12 March, 2021.
 48. **Fulga A.**, Pantea V., Tagadiuc O., Gudumac V. The erythrocytes glutathione reductase activity is influenced by roots extracts of Taraxacum officinale. In: *Middle East International Conference on contemporary scientific studies-V*. Ankara, Turkey, 27-28 March, 2021.
 49. **Fulga A.**, Pantea V. The antioxidant activity of Taraxacum Officinale. In: *Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering-NanoBioMat 2021*. Bucharest, Romania, 25 – 26 Iunie, 2021.
 50. **Fulga A.** Poliphenols content in roots of Taraxacum Officinale. In: *IV International Icontech Symposium on Innovative Surveys in Positive Sciences*. Adana, Turkey, 18-19 July, 2021.
 51. **Fulga A.** The influence of Taraxacum Officinale extracts on erythrocytes superoxide dismutase activity. In: *Euroasia International Congress on Scientific Research and Recent Trends - VIII*. Philippine Merchant Marine Academy, 2-4 August, 2021.
 52. **Fulga A.** The nitric oxide synthase activity is influenced by Taraxacum Officinale. In: *2. International Scientific Research and Innovation Congress*. Istanbul, Turkey, 11-12 September, 2021.

53. **Fulga A.**, Protopop S., Tagadiuc O., Gudumac V. The amount of erythrocytes malondialdehyde is influenced by Taraxacum Officinale. In: *International Harran Health Sciences Congress-III*. Harran University, Sanliurfa, Turkey, 1-3 October, 2021.
54. **Fulga A.** The Influence Of Taraxacum Officinale On Rbc's Nitrate and Nitrite Content. In: *3rd International Cukurova Agriculture and Veterinary Congress*. Adana, Turkey, 9-10 October, 2021.
55. **Fulga A.**, Coretchi A. Taraxacum Officinale is a promising source of hydroxycinnamic acid derivatives. In: *4th International African Conference on Current Studies*. Bani Waleed University, Libya, 20-22 October, 2021.
56. **Fulga A.** The impact of Taraxacum Officinale extracts on erythrocytes glutathione reductase activity. В: *Научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ)*. Минск, Беларусь, 1-5 Ноября, 2021.
57. **Fulga A.** The Modulatory Action of Taraxacum Officinale on Superoxide Dismutase and Catalase Activity. In: *International Anatolian Congress on Medicinal and Aromatic Plants*. Arapgir Municipality, Malatya, Turkey, 16-17 November, 2021.
58. **Fulga A.** Dose and Time Dependent Antioxidant Activity of Taraxacum Officinale. In: *3.Uluslararası Palandöken Bilimsel Çalışmalar Kongresi*. Erzurum, Turkey, 11-12 December, 2021.
59. **Fulga A.** Concentration and Time Dependent Antioxidant Activity of Taraxacum Officinale Roots. In: *3.International Gobeklitepe Scientific Studies Congress*. Şanlıurfa, Turkey, 17-18 December, 2021.
60. **Fulga A.** ABTS Scavenging Activity of Taraxacum Officinale roots. *ISPEC 8th* In: *International Conference on Agriculture, Animal Science and Rural Development*. Bingol, Turkey, 24-25 December, 2021.
61. **Fulga A.** Taraxacum Officinale leaves acts as effective inhibitors of oxidation. In: *Istanbul International Modern Scientific Research Congress –II*. Istanbul, Turkey, 23-25 December, 2021.
62. **Fulga A.** Taraxacum Officinale Roots Good Sources of Coffee. In: *2nd International Conference on Coffee and Cocoa*. Bogota, Colombia, 7-8 April, 2022.
63. **Fulga A.** Determination of Total Flavonoids Content in Taraxacum Officinale from Roots. In: *Cukurova 8th International Scientific Researches Conference*. Adana, Turkey, 15-17 April, 2022.
64. **Fulga A.** Taraxacum Officinale Leaves are Promising Source of Flavonoids. In: *Tashkent 1st-International Congress on Modern Sciences Tashkent Chemical-Technological Institute*. Tashkent, Uzbekistan, 10-11 May, 2022.
65. **Fulga A.** Dandelion Suppresses Glioblastoma Cell Line U-251 MG Viability. In: *Hodja Akhmet Yassawi 6th International Conference on Scientific Research*. Lankaran, Azerbaijan, 13-15 May, 2022.
66. **Fulga A.** Taraxacum Officinale Roots Suppresses Glioblastoma Cell Line U-138 MG Viability. In: *2. International Dicle Scientific Studies and Innovation Congress*. Diyarbakir, Turkey, 28-29 May, 2022.
67. **Fulga A.**, Pantea V. Determination of Total Poliphenols Content in Taraxacum Officinale Leaves. In: *Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering-NanoBioMat 2022*. Bucharest, Romania, 22 – 24 June, 2022.
68. **Fulga A.**, Pantea V. Chicoric acid of Taraxacum Officinale leaves as a potential agent against glioblastoma. In: *Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering-NanoBioMat 2022*. Bucharest, Romania, 24 – 26 November, 2022.

✓ **naționale**

69. **Fulga A.**, Pantea V., Gudumac V., Toderas M., Tagadiuc O. Determinarea conținutului total de polifenoli în pădăie. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 20-23 Octombrie, 2020.

• **Participări cu postere la foruri științifice:**

✓ **internaționale**

70. **Fulga A.**, Todiras M., Casian A., Casian I., Gudumac V., Tagadiuc O. Dandelion's active components suppress glioblastoma U-138 MG cells viability. In: *RSU RESEARCH WEEK/Knowledge for use in practice*. Riga, Latvia, 27-31 March, 2023, <http://rw2023.rsu.lv/>.

✓ **naționale**

71. **Fulga A.** Taraxacum officinale – a promising source of chlorogenic acid. *International Scientific Conference* In: *Actual Issues of Morphology dedicated to the 75th anniversary of „N. Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy*. Chișinău, 30-31 October, 2020.

72. **Fulga A.**, Tagadiuc O., Gudumac V. Taraxacum Officinale acts as a powerful antioxidant. In: *The 7th International Conference Ecological & Environmental Chemistry*. (EEC-2022, <http://eec-2022.mrda.md/>), Chisinau, 3-4 March, 2022.

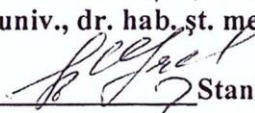
73. **Fulga A.** The action of Taraxacum Officinale extracts on thiols content. În: *Conferința științifică anuală Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță USMF „N. Testemițanu”*. Chișinău, 20-23 Octombrie, 2021.

74. Protopop S., **Fulga A.** The erythrocytes' catalase activity is influenced by Taraxacum Officinale. În: *Conferința științifică anuală Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță USMF „N. Testemițanu”*. Chișinău, 20-23 octombrie, 2021.



APROB

Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
academician al AȘM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.


Stanislav GROPPA
2021

**ACTUL nr. 37
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)**

1. Denumirea ofertei pentru implementare: „METODĂ DE DOZARE A CONȚINUTULUI TOTAL DE FLAVONOIZI”

2. Autorii: FULGA Ala, cerc. șt. stagier., PANTEA Valeriana, cerc. șt., ANDRONACHE Lilia, cerc. șt. superior, TAGADIUC Olga, dr. hab. șt. med., prof. univ., șef Catedra de biochimie și biochimie clinică, GUDUMAC Valentin, dr. hab. în șt. med., prof. univ., șef Lab. de biochimie.

3. Numarul inovației: Nr. 5853 din 08 iunie 2021.

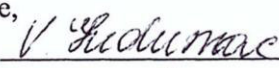
4. Unde și când a fost implementată: În laboratorul de Biochimie, USMF „Nicolae Testemițanu” în perioada anilor 2020 – 2021.

5. Eficacitatea implementării: Problema pe care o rezolvă inovația constă în mărirea performanțelor analitice – sensibilitatea, reproductibilitatea și precizitatea metodei, micșorarea cheltuielilor de timp și de reagenți costisitori, creșterea productivității muncii, influență pozitivă asupra cost-eficienței analizei.

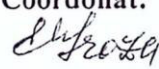
6. Rezultatele: Rezultatul inovației constă în aceea că ea se efectuează în microplăci cu 96 godeuri, fapt ce permite procesarea concomitentă a probelor în serie, creșterea productivității muncii, reproductibilității și precizității metodei.

7. Obiecții/Propuneri: Metodă propusă se utilizează în procesul științifico-practic în Laboratorul de Biochimie.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Laboratorul de biochimie,
dr. hab. șt. med., prof. univ.  Valentin GUDUMAC

Șef Departament Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI

Coordonat:
 E. Groza



APROB

Prorector pentru activitate de
cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu” din
RM
academician al AȘM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.


Stańslav GROPPA
„ ” 2021

ACTUL nr. 36
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)

1. Denumirea ofertei pentru implementare: “METODĂ DE DOZARE A
CONȚINUTULUI DE COMPUȘI FENOLICI”

2. Autorii: FULGA Ala, cerc.șt. stagier., PANTEA Valeriana, cerc. șt., ANDRONACHE
Lilia, cerc. șt. superior, TAGADIUC Olga, dr. hab. șt. med., prof. univ., șef Cat. Biochimie și
Biochimie clinică, GUDUMAC Valentin, dr. hab. șt. med., prof. univ., șef. lab. Biochimie.

3. Numarul inovației: Nr. 5852 din 08 iunie 2021.


4. Unde și când a fost implementată: În laboratorul de Biochimie, USMF „Nicolae
Testemițanu” în perioada anilor 2020 – 2021.

5. Eficacitatea implementării: Problema pe care o rezolvă inovația constă în mărirea
performanțelor analitice – sensibilitatea, reproductibilitatea și precizitatea metodei, micșorarea
cheltuielilor de timp și de reagenți costisitori, creșterea productivității muncii, influență pozitivă
asupra cost-eficienței analizei.

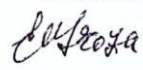
6. Rezultatele: Rezultatul inovației constă în aceea că ea se efectuează în microplăci cu 96
godeuri, fapt ce permite procesarea concomitentă a probelor în serie, creșterea productivității
muncii, reproductibilității și precizității metodei..

7. Obiecții/Propuneri: Metodă propusă se utilizează în procesul științifico-practic în
Laboratorul de Biochimie.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Laboratorul de biochimie,
dr. hab. șt. med., prof. univ.  Valentin GUDUMAC

Șef Departament Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI

Coordonat:
 E. Groza



REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DŪRATĂ

Nr. 1581

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: Metodă de apreciere a influenței substanțelor biologice active asupra capacității de producere a hidrogenului sulfurat de către un țesut biologic

Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

Data depozit: 2021.03.12

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

Director General



COPIE

CHIȘINĂU



nr. 14196
2021.10.18
din _____

NOVIKOVA Valeria, IMSP Institutul de
Medicină Urgentă
str. T. Ciorba 1, MD-2004, Chișinău,
Republica Moldova

HOTĂRĂRE

nr.9907 din 2021.10.18

În urma examinării dosarului cererii de brevet de invenție de scurtă durată:

- (21) Nr. depozit: s 2021 0017
 (22) Data depozit: 2021.03.12
 (54) Titlu: **Metodă de apreciere a influenței substanțelor biologice active asupra capacității de producere a hidrogenului sulfurat de către un țesut biologic**

și în temeiul art. 52(3) din Legea nr. 50/2008 privind protecția invențiilor, Direcția Brevete, Secția Examinare

HOTĂRĂȘTE

Acordarea brevetului de invenție de scurtă durată conținând următoarele date:

- (13) Y
 (51) Int.Cl: *A61B 10/00* (2006.01)
 G01N 33/52 (2006.01)
 (21) s 2021 0017
 (22) 2021.03.12
 (71) (73) IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD
 (72) PANTEA Valeriana, MD; ANDRONACHE Lilia, MD; SARDARI Veronica, MD;
 FULGA Ala, MD; ȘVEȚ Inna, MD; GAMANIUC Marina, MD; GHINDA Sergiu, MD;
 POPA Veaceslav, MD
 (54) **Metodă de apreciere a influenței substanțelor biologice active asupra capacității de producere a hidrogenului sulfurat de către un țesut biologic**



Instituție Publică
USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova
Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate

Pag. 7 / 7



PROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
academician al AȘM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.
Stanislav GROPPA
2022

ACTUL nr. 84
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)

1. Denumirea ofertei pentru implementare: „PROCEDEU DE DOZARE A β -SITOSTEROLULUI ȘI A DERIVAȚILOR LUI”

2. Autorii: FULGA Ala, cerc.șt. stagier., PANTEA Valeriana, cerc. șt., ANDRONACHE Lilia, cerc. șt. superior.

3. Numarul inovației: Nr. 5961 din 21 octombrie 2022

4. Unde și când a fost implementată: În laboratorul de Biochimie, USMF „Nicolae Testemițanu” în perioada anilor 2021 – 2022.

5. Eficacitatea implementării: La folosirea metodei descrise se exclude folosirea reactivilor toxici, se mărește precizitatea și reproductibilitatea metodei în comparație cu prototipul. Aceasta permite de a depista mai precis efectele substanțelor testate la diferite concentrații, se exclude probabilitatea apariției proceselor patologice legate de intoxicația cronică cu componentele toxice ale reactivului Libermann-Burchard-Zak, se exclude acțiunea nocivă a acestuia asupra mediului ambiant, crește productivitatea muncii cu un efect economic apreciabil.

6. Rezultatele: elaborarea condițiilor optimale de efectuare a reacțiilor chimice, fapt ce permite de a mări precizitatea și reproductibilitatea metodei, productivitatea muncii și eficiența economică.

7. Obiecții/Propuneri: Propunerea se prezintă a fi una utilă și se va utiliza în practică în Laboratorul de Biochimie.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Sef lab. Biochimie,
dr. hab. șt. med., prof. univ. Valentin Gudumac Valentin GUDUMAC

Șef Departament Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ. Elena RAEVSCHI Elena RAEVSCHI

Stanislav Groppa



Republica Moldova
Ministerul Sănătății,
Muncii și Protecției Sociale

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5853

Pentru inovația cu titlul
**METODĂ DE DOZARE
A CONȚINUTULUI TOTAL DE
FLAVONOIZI**


Inovația a fost înregistrată pe data de **08 Iunie 2021**
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**FULGA Ala, PANTEA Valeriana,
ANDRONACHE Lilia, TAGADIUC Olga,
GUDUMAC Valentin**

Data eliberării **08 Iunie 2021**

L.Ș.


(Semnătura autorizată)





Republica Moldova
Ministerul Sănătății

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5961

Pentru inovația cu titlul

PROCEDEU DE DOZARE A β -SITOSTEROLULUI ȘI A DERIVAȚILOR LUI

Inovația a fost înregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

FULGA Ala, PANTEA Valeriana,

ANDRONACHE Lilia



24 octombrie 2022


(Semnătură autorizată)





Republica Moldova
Ministerul Sănătății,
Muncii și Protecției Sociale

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5852

Pentru inovația cu titlul
**METODĂ DE DOZARE A
CONȚINUTULUI DE COMPUȘI
FENOLICI**

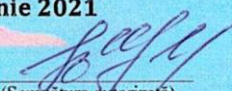
Inovația a fost înregistrată pe data de **08 Iunie 2021**
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**FULGA Ala, PANTEA Valeriana,
ANDRONACHE Lilia, TAGADIUC Olga,
GUDUMAC Valentin**

Data eliberării **08 Iunie 2021**

L.Ș.


(Semnătura autorizată)





SALONUL INTERNAȚIONAL DE

INVENȚII
INOVAȚII

"TRAIAN VUIA" TIMIȘOARA



Diplomă

SE ACORDĂ



MEDALIA
DE AUR

pentru invenția
METODA DE APRECIERE A INFLUENȚEI SUBSTANTELOR BIOLOGIC
ACTIVE ASUPRA CAPACITĂȚII DE PRODUCERE A HIDROGENULUI
SULFURAT DE CĂTRE UN TESUT BIOLOGIC

autori

*Pantea Valeriana, Andronache Lilia, Sardari Veronica, Fulga
Ala, Șveț Inna, Gamaniuc Marina, Ghinda Sergiu, Popa Veaceslav*

instituția

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINA ȘI FARMACIE "NICOLAE
TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA

Președinte juriu

Prof. dr. habil. Narcisa MEDERLE



Președinte salon

Remi RĂDULESCU

Data 10 octombrie 2022



Diploma of Honor

GOLD MEDAL

Offered to

**PANTEA V., ANDRONACHE L., SARDARI V., FULGA A., ŞVEȚ I.,
GAMANIUC M., GHINDA S., POPA V.**

„Nicolae Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy of the
Republic of Moldova

**METHOD FOR ASSESSING THE INFLUENCE OF BIOLOGICALLY
ACTIVE SUBSTANCES ON HYDROGEN SULPHIDE
PRODUCTION CAPACITY BY A BIOLOGICAL TISSUE**

in recognition of high scientific contribution and loyalty to
the XXVI-th INTERNATIONAL EXHIBITION OF INVENTICS

INVENTICA 2022

Iasi, Romania

22-24 June 2022

GENERAL MANAGER
NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS
Prof. Neculai-Eugen SEGHEDEIN PhD



MINISTERUL
CERCETĂRII,
INOVARII ȘI
DIGITALIZĂRII

DIPLOMA OF BRONZE MEDAL 2022

is awarded to:

**Method for assessing the influence of biologically
active substances on hydrogen sulphide production capacity by a biological
tissue**

PANTEA Valeriana, ANDRONACHE Lilia, SARDARI Veronica, FULGA Ala, ȘVEȚ
Inna, GAMANIUC Marina, GHINDA Sergiu, POPA Veaceslav

President of International Jury
Prof.Dr.Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

President of Exhibition
Prof.Dr. Ion SANDU

May 28, 2022



THE ACADEMY OF ROMANIAN SCIENTISTS

Best Paper Award

This award is proudly presented to

Ala FULGA, Valeriana PANTEA

for the paper "Determination of Total Poliphenols Content in *Taraxacum Officinale* Leaves" presented at the International Scientific Conference „*Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering*”.

ECATERINA ANDRONESCU



22 - 24 June 2022

University **POLITEHNICA** of Bucharest

BESTOWS

EXCELLENCE INNOVATION AWARD

TO

*GANTAR Valeriana, Andreanache Lilia, Sorulari Veronica, Fulga Alina, Ghet Gna, Zamfiru
Marina, Ghineta Segeu, Popa Vladislav*
*Method for assessing the influence of biologically active substances on hydrogen
sulphide production capacity by a biological tissue.*

for achieving excellency in innovation through dedication and the
consistent wish to push the borders of what can be obtained through
science and technology

Mihnea Cosmin COSTOIU

Rector



26-28 May 2022



EUROINVENT

EUROPEAN EXHIBITION OF CREATIVITY AND INNOVATION

Palace of Culture - Iași



CURRICULUM VITAE



Informații personale

Nume / Prenume

Adresa

Telefoane

e-mail

Sex

Data nașterii

Naționalitatea

Experiența profesională

Perioada

Funcția și postul
ocupat

Tipul activității

Perioada

Funcția și postul
ocupat

Tipul activității

Fulga Ala

str. Doina 23, cod poștal MD-3733, s. Trușeni, mun. Chișinău,
Republica Moldova

Fix: 0-22-591681 Mobil: 067494447

ala.fulga@usmf.md

Feminin

24.03.1977

Român

2001- 2012

Chimist-farmacist expert la Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale (MD-2028, Republica Moldova, Chișinău, str. Korolenco 2/1).

- Responsabilitate personală pentru calitatea și veridicitatea rezultatelor analizelor, documentarea și eliberarea lor oportună;
- Cunoașterea și aplicarea metodelor spectrofotometrice, cromatografice de analiză a medicamentelor;
- Exploatarea corectă și rațională a bunurilor materiale (aparatajului, consumabilelor) ale laboratorului;
- Elaborarea și implementarea metodelor fizico-chimice.

2012 - prezent

Asistent universitar Catedra de biochimie și biochimie clinică, USMF „Nicolae Testemițanu”, MD-2028, Republica Moldova, Chișinău, str. N. Testemițanu, 27, Blocul didactic nr. 1.

Activitate didactică, activități instructiv-metodice, de cercetare științifică, organizațional-metodice și educative, efectuate cu studenții de la facultățile Medicină generală M1, M2, Stomatologie, Farmacie și Medicina preventivă, cu predare în limbile română, rusă, engleză.

Educație și formare

Numele și tipul instituției de învățământ

Universitatea de Stat din Moldova, Facultatea de Chimie

Perioada

04.08.1995 – 29.06.2000

Calificarea/diploma obținută

Diplomă de licență, profil chimie, specialitatea chimie și fizică

Discipline principale studiate

- ◆ Chimie
- ◆ Fizica
- ◆ Biologie
- ◆ Matematica
- ◆ Informatica

Numele și tipul instituției de învățământ

Universitatea Academiei de Științe a Moldovei, Institutul de Chimie

Perioada

01.11.2013 – 24.05.2017

Calificarea/diploma obținută

Cercetător științific stagiar în laboratorul de – Chimia bioorganică, chimia compușilor naturali și fiziologic activi din cadrul Institutului de Chimie al Academiei de Științe din R. Moldova.

Participarea la proiecte

Am participat la realizarea proiectului bilateral moldo-român cu Universitatea A.I. Cuza, Iași, România „Sinteza compușilor noi biologic activi cu unități structurale terpenice și heterociclice”, Nr.13.820.05.12/RoF în calitate de executor.

În perioada 1995-2017 au fost realizate 30 publicații (articole, teze, comunicări, postere cu participări la Conferințe Naționale și Internaționale).

Alte activități

2017-prezent

Sunt secretar al catedrei de biochimie și biochimie clinică, USMF „Nicolae Testemițanu”, MD-2028, Republica Moldova, Chișinău, str. N. Testemițanu, 27, Blocul didactic nr. 1.

15.10.2019 – prezent

Studentă-doctorandă anul IV, forma de studii cu frecvență redusă, programul de doctorat 315.01 – Biochimie medicală, USMF „Nicolae Testemițanu”

Participarea în realizarea Programelor naționale privind executarea proiectului de cercetări științifice din cadrul Programului „**Program de Stat**” (2020 - 2023) în calitate de cercetător științific stagiar, în cadrul Laboratorului de biochimie USMF „Nicolae Testemițanu”,



„Produse noi, inovative cu performanțe remarcabile în medicină (biofarmaceutică). **Elucidarea mecanismelor moleculare și celulare ale acțiunii unor produse noi și argumentarea folosirii lor la eficientizarea tratamentului unor patologii**”. Cifra proiectului 20.80009.5007.10. Direcția Strategică: Competitivitate economică și tehnologii inovative. Contractul nr. 148/2 – PS din 03.01.2020

În perioada 2018-2023 au fost realizate 90 publicații (articole, teze, comunicări, postere cu participări la Conferințe Naționale și Internaționale).

Aptitudini și competențe personale

Limba maternă
Autoevaluare
Nivel european (*)

Română

Înțelegere		Vorbire		Scriere
Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	Exprimare scrisă
B2	B2	B2	B2	B2
A2	A2	A2	A2	A2
B2	B2	B2	B2	B2

Rusa
Franceza
Engleza

(*) Nivelul Cadrului European Comun de Referință Pentru Limbi Străine

Competențe
aptitudini PC
Informații
suplimentare

Aptitudini practice cu MS Word, Excel, Power Point.

Căsătorită, 2 copii.

Permis de conducere - Categoria B

Declarația privind asumarea răspunderii

Subsemnata, declar pe răspundere personală, că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Fulga Ala

Semnătura

Data

Declaration on accountability

I declare the personal responsibility that information presented in this thesis are the result of my own research and scientific achievements. I realize that, otherwise, will suffer the consequences in accordance with law.

Fulga Ala

Signature

Date