

ETAPA III/2009

Perioada de executie 01.07.2008- 17.01.2009

Valoare etapa -

buget : 305.000 lei, din care :

- Coordonatorul – 155.000 lei
- Partener 1 - 100.000 lei
- Partener 2 - 50.000 lei

cofinantare : 38.750 lei

OBIECTIVUL ETAPEI

Proiectarea tehnologiei de obtinere a fractiunilor extractive standardizate

Activitati

- Screeningul *in vitro* al actiunii antioxidante a fractiunilor extractive; studiul efectelor la nivel vascular
- Elaborarea tehnologiei de extractie a fitocomplexilor bioactivi la faza de laborator
- Caracterizarea fizico-chimica a fractiunilor extractive si standardizarea fractiunilor celor mai promitatoare din punct de vedere al potentialului biologic
- Elaborarea metodelor de caracterizare a fractiunilor extractive; diseminarea pe scara larga prin comunicarea si publicarea rezultatelor cercetarii

REZUMAT

Avand in vedere implicarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO) in aparitia si evolutia bolilor cardiovasculare, a fost testata **capacitatea de scavenger de radicali liberi** a extractelor obtinute, precum si **capacitatea acestora de a inactiva anumite SRO**, si anume: peroxidul de hidrogen (H_2O_2), radicalul anion superoxid ($O_2^{\cdot-}$) si radicalul hidroxil (HO^{\cdot}).

✓ **Activitatea de scavenger de radicali liberi** a fost evaluata prin masurarea capacitatii de neutralizare a radicalului difenilpicrilhidrazil (DPPH), respectiv de transformare a acestuia in forma sa redusa (difenilpicrilhidrazina), de catre extractele vegetale analizate.

Dintre extractele analizate, cele mai active s-au dovedit a fi extract brut obtinut din *Cynarae folium* si extractul purificat obtinut din *Sorbi aucupariae fructus* care, la concentratia de 20 mg/ml, au neutralizat radicalul DPPH in proportie de 85,99%, respectiv 85,90%.

Extractul brut obtinut din *Sorbi aucupariae fructus* a neutralizat radicalii DPPH in proportie de 36,64%.

Cvercetolul, in concentratie de 1,69 mg/ml, a neutralizat radicalul DPPH in proportie de 100%.

✓ **Activitatea de scavenger fata de radicalul anion superoxid** a fost determinata evaluand capacitatea extractelor de analizat de a inhiba reactia de reducere a nitro-blue-tetrazolium (reactie in care sunt implicati si radicalii anion superoxid) in sistemul fenazinmetosulfat/nicotinamid-adenin-dinucleotid redus.

Dintre extractele analizate, cel mai activ s-au dovedit a fi extractul purificat obtinut din *Sorbi aucupariae fructus* care, la concentratia de 20 mg/ml, a neutralizat radicalii anion superoxid in proportie de 91,84%.

Extractul obtinut din *Allii ursini herba*, s-a dovedit a fi inactiv.

Catehina, in concentratie de 1 mg/ml, a neutralizat radicalii anion superoxid in proportie de 90,29%.

✓ **Activitatea de scavenger fata de radicalul hidroxil** a fost determinata prin evaluarea capacitatii extractelor de analizat de a inhiba reactia de formare a radicalilor hidroxil in sistemul Fe^{2+} /tampon fosfat.

Dintre extractele analizate, s-au dovedit a fi active extractul obtinut din *Cynarae folium*) si extractul purificat obtinut din *Sorbi aucupariae fructus* care, la concentratia de 20 mg/ml, au neutralizat radicalii hidroxil in proportie de 49,56% si respectiv, 69,83%.

Extractul obtinut din cariopsele de *Avena sativa* L., extractul obtinut din partile aeriene de *Allium ursinum* L. si extractul obtinut din fructele de *Sorbus aucuparia* L. au fost inactiv.

Catehina, in concentratie de 5 mg/ml, a neutralizat radicalii hidroxil in proportie de 79,65%.

✓ **Activitatea de scavenger fata de peroxidul de hidrogen** a fost determinata prin evaluarea capacitatii extractelor de analizat de a descompune peroxidul de hidrogen, proces insotit de reducerea absorbantei sale la 230 nm.

Dintre extractele analizate, cel mai activ s-au dovedit a fi extractul purificat obtinut din *Sorbi aucupariae fructus* care, la concentratia de 20 mg/ml, a descompus peroxidul de hidrogen in proportie de 76,96%.

Catehina, in concentratie de 5 mg/ml, a descompus peroxidul de hidrogen in proportie de 73,15%.

Functia endoteliala este un marker de prognostic important in evaluarea pacientilor cu risc cardiovascular sau cu boli cardiovasculare .

Au fost testate efectele extractelor asupra reactivitatii vasculare arteriale de conductanta si rezistenta la sobolan.

Efecte semnificative au fost obtinute doar pentru extractul purificat din fructele de scorus. Administrarea acestuia in incubare timp de 15 minute a determinat o inhibitie semnificativa a contractiei fenilefrinice. Pe de alta parte, administrarea sa in platoul de contractie a determinat un efect miorelaxant tranzitor nesemnificativ (1-5%).

In vederea alegerii si standardizarii fractiunilor extractive cu potential maxim bioactiv, produsele vegetale studiate *Avena sativa*, *Allium ursinum*, *Cynara scolymus* si *Sorbus aucuparia* s-au extras la faza de laborator, in solventi hidroalcoolici de diferite grade si/sau apa.

Fractiunile extractive obtinute au fost caracterizate fitochimic calitativ (HPTLC, HPLC) si cantitativ (spectrofotometric si HPLC).

Fiecare specie analizata a evidentiat existenta unor fractiuni polifenolice si flavonoidice, cu proprietati antioxidante, care pot fi utilizate in alcatuirea de formule de fitopreparate utilizabile in tratarea unor afectiuni cardiovasculare.

Rezultatele obtinute au fost disseminate in abstractul prezentat in anexa, prezentat la "Fifth Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European

Countries, 5th CMAPSEEC“ 2-5.09.2008, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno-Czech Republic.

CONCLUZII

Se poate aprecia faptul ca, dintre toate extractele preparate, **extractul purificat obtinut din *Sorbi aucupariae fructus*** s-a dovedit a fi **cel mai activ ca antioxidant**. In concentratie de 20 mg/ml, extractul 5 a neutralizat radicalul DPPH in proportie de 85,90% si a inactivat o serie de specii reactive ale oxigenului, implicate in aparitia si evolutia multor boli cardiovasculare, in proportie de 91,84% (radicalul anion superoxid), 69,83% (radicalul hidroxil) si 76,96% (peroxidul de hidrogen).

Trebuie remarcata si activitatea antioxidanta a **extractului obtinut din *Cynarae folium*** care, in aceeasi concentratie (20 mg/ml) a 5 a neutralizat radicalul DPPH in proportie de 85,99% si a inactivat radicalii anion superoxid (60,88%) si hidroxil (49,56%). De asemenea, acest extract a descompus apa oxigenata in proportie de 41,25%.

Testarea efectelor antioxidante si a efectelor la nivel vascular a evidentiat faptul ca **extractul purificat obtinut din *Sorbi aucupariae fructus*** dezvolta efecte antioxidante si vasorelaxante semnificative.

O importanta actiune antioxidanta a fost evidentiata si pentru **extractul obtinut din *Cynarae folium***.

Indiferent de concentratia etanolica a extractelor de *Cynara scolymus*, acestea au capacitatea de a extrage acizi cafeoilchimici (acid clorogenic si derivati) si compusi flavonoidici ca: apigenol, apigenol-7-glucozida, luteolina si luteolin-7-glucozida.

Recomandarea pentru standardizarea extractelor de anghinare este in *luteolina*. Insumand datele inserate pentru luteolina si luteolin-7-glucozida se observa ca aceste doua fractiuni au o valoare ridicata per extract, astfel ca valorile sunt de:

- pentru extractul etanolic de 96° valoarea este de **2.569** mg/100 ml extract,
- pentru extractul etanolic de 70° valoarea este de **7.452** mg/100 ml extract,
- pentru extractul etanolic de 50° valoarea este de **5.592** mg/100 ml extract,
- pentru extractul etanolic de 30 ° valoarea este de **13.290** mg/100 ml extract.

Pentru specia *Avena sativa* analiza prin HPLC a scos in evidenta prezenta apigenolului si rutozidei in extractele etanolice si numai a apigenolului in extractul apos.

La *Cynara scolymus* in extractele vegetale s-au identificat si dozat urmasorii compusi: *acidul clorogenic*, *apigenolul*, *apigenol-7-glucozida*, *luteolina*, *luteolin-7-glucozida*.

Allium ursinum are in extractele metanolice si etanolice, cu precadere, *acid ferulic*.

Sorbus aucuparia contine, ca fractiuni cu proprietati antioxidante, *acid clorogenic*, *rutozida* si *apigenol-7-glucozida*.

In extractele etanolice de concentratii mai mari de *Avena sativa* s-a identificat *acidul ursolic*. La extractele de *Cynara scolymus* s-a gasit *stigmasterol* (fitosterol, ce poate actiona ca o izoflavonoida) iar in extractele de *Allium ursinum* si *Sorbus aucuparia* este prezent *acidul ursolic*.