

CERCETĂRI PRECLINICE ȘI CLINICE

În memoriam prof. Parii Boris și prof. Chintea Pavel

STUDIUL PRIVIND PROPRIETĂȚILE ANTIOXIDANTE A GLICOZIDELOR DE ORIGINE VEGETALĂ

Studies regarding antioxidant properties of vegetal glycosides.

Ivanova Raisa, Mașcenco Natalia, **Chintea Pavel**

Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei

Rezumat.

Scopul lucrării a fost evidențierea proprietăților antioxidante ale compozițiilor glicozidice naturale izolate din flora autohtonă. S-a aplicat metoda potențiomtrică de determinare *in vitro* a capacității de captare a radicalilor liberi bazată pe generarea radicalilor peroxi ROO· cu ajutorul 2,2-azobis(2-amidinopropan)dihidrocloridului. Conform indicilor de activitate antioxidantă glicozidele testate s-au aranjat în următoarea consecutivitate: glicozide fenolice > glicozide steroidice furostanolice > glicozide iridoidice > glicozide steroidice spirostanolice. Verbascozida, tomatozida și capsicozida posed activitatea antioxidantă înaltă și pot fi recomandate pentru utilizarea în calitatea de adaptogeni.

Cuvinte cheie: activitatea antioxidantă, glicozide steroidice, iridoidice, fenolice

Abstact.

The purpose of the paper was to reveal the antioxidant properties of natural glycoside compositions isolated from indigenous flora. Potentiometric method of *in vitro* determination the free radicals scavenging capacity based on generating of peroxy radicals ROO· by using 2,2-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride was applied. According to antioxidant activity indexes tested glycosides were arranged in the following sequence: phenolic glycosides > steroid furostanolic glycosides > iridoid glycosides > steroid spirostanolic glycosides. Verbascozide, capsicozide and tomatoside possess high antioxidant activity and can be recommended for use as adaptogens.

Key words: antioxidant activity, steroid, iridoid, phenolic glycosides

Introducere. Glicozide de origine vegetală sunt în centrul atenției ale cercetătorilor din diferite domenii datorită spectrului larg de activitate biologică – efecte antivirale, imunomodulatoare, de consolidare a rezistenței la factorii de stres [1-3]. S-a demonstrat că glicozidele steroidice inițiau în plante reacțiile nespecifice de protecție, ceea ce se reflectă în ridicarea fondului de pigmenți în aparatul fotosintetic, activarea proceselor legate de peroxidarea lipidelor, creșterea activității peroxidazei – enzimei de protecție antioxidantă. Mecanisme de acțiune a glicozidelor *in vivo* sunt variate și până în prezent nu sunt descrise detaliat, dar cu mare probabilitatea se poate presupune că toate sunt bazate pe un șir de reacții de oxido-reducere. Luând în considerație cele expuse important este de a apreciat *in vitro* activitatea antioxidantă a glicozidelor de origine vegetală, activitatea biologică a caruri deja a fost confirmată. Lucrarea dedicată studiului comparativ a proprietăților antioxidante a glicozidelor izolate din flora autohtonă, precum și este o încercare de a stabili relațiile corelative dintre structura lor chimică și activitatea.

Obiecte de cercetare. S-au testat compoziții de glicozide și glicozide individuale obținute, purificate și identi-

ificate sub conducerea dr. habilitat, profesorului Chintea Pavel în laboratorul Bioreglatori Naturali al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei, și anume:

- glicozide fenolice izolate din lumânărica (verbascozida);
- compoziția sumară de glicozide steroidice, iridoidice și fenolice izolată din linăriță (linarozida);
- glicozide iridoidice izolate din linăriță (linarozida 1);
- glicozide fenolice izolate din linăriță (linarozida 2);
- glicozide fenolice izolate din buberic (scrofulariozida);
- glicozide steroidice izolate din ardei (capsicozina, capsicozida), tomate (tomatonina, tomatozida) și schinduf (trigonellozida).

Metoda de cercetare a activității antioxidante. S-a aplicat metoda potențiomtrică de determinare *in vitro* a capacității de captare a radicalilor liberi descrisă de Sano M. cu coautorii [4], cu unele modificări proprii [5]. Metoda se bazează pe generarea radicalilor peroxi ROO· cu ajutorul 2,2-azobis(2-amidinopropan) dihidrocloridului.

Activitatea antiradicală (ARA, %) se determină față de proba-control care nu conține bioantioxidanți. Concentrația la care bioantioxidantul manifestă efectul de captare a 50% de radicali liberi (inhibitory concentration IC_{50}) se calculează din relația doză-dependentă. În calitate de preparat de referință a fost utilizat preparatul Asparagozida, extract uscat din rizomii și rădăcinile de sparanghel medicinal (*Asparagus officinalis* L.), care reprezintă o compoziție naturală de glicozide steroidice (50% furostanolice și 25-30% spirostanolice) [6]. Activitatea antioxidantă a fost exprimată în echivalentul acidului galic (GAE, $\mu\text{M/g}$), concentrația acidului galic (antioxidant standard) în μM care manifestă activitatea analogică cu glicozida testată raportată la un g a glicozidei.

Rezultate și discuții. Rezultate cercetărilor obținute au arătat că compozițiile glicozidice testate posed activitatea antioxidante, care este direct proporțională concentrației cu aproximația înaltă ($r^2=0,9097-0,9987$) în limitele corespunzătoare: 0,2-1,0 g/l pentru verbascozida și scrofulariozida; 0,5-4,0 g/l - linarozida și trigonellozida; 1,0-5,5 g/l - linarozida 1 și 2. După indice IC_{50} glicozide pot fi prezentate în următoare ordine: verbascozida > scrofulariozida > trigonellozida > linarozida - compoziția sumară > linarozida 1 > linarozida 2. Așa dar cea mai înaltă activitatea antioxidantă a manifestat-o verbascozida, compoziția de natură fenolică obținută din partea aeriană a plantelor *Verbascum densiflorum* Bertol [7]. Compoziția conține două glicozide greu separabile – dehidroconiferol-9'-O- β -D-glucozoperanozida și dehidroconiferol-9-O- β -D-glucozoperanozida, care anterior au fost extrase și identificate din *Verbascum saviiifolium* Boiss [8]. S-a determinat că molecule de verbascozidă conțin aproximativ 8,3% de grupe hidroxilice active ceea ce predetermină potențialul activității antioxidante a compoziției. Indice IC_{50} a verbas-

cozidei este de $201,34 \pm 13,01 \mu\text{g/ml}$. Acestea rezultate sunt în bună concordanță cu datele ale cercetărilor obținute cu utilizarea altor metode de evaluare a capacității extractelor din *Verbascum spp.*, de a inhiba oxidarea provocată de radicalii liberi [9]. În plus s-a confirmat că activitatea antioxidantă a verbascozidei testate este în dependența direct proporțională de conținutul de grupe hidroxilice active în reziduurile fenolice ale glicozidelor constitutive.

Studiul comparativ a linarozidelor – compoziției sumare sau extractului integral din partea aeriana a plantelor *Linaria vulgaris* și fracțiunilor purificate au confirmat concluziile trase și de alți autori că extractele integrale posed activitatea mai înaltă decât fracțiile izolate din ele. IC_{50} a linarozidei este de $3,21 \pm 0,18 \text{ mg/ml}$, dar linarozida 1 și 2 posed activitatea antioxidantă mai mică de 1,69 și 1,73 ori, respectiv.

Glicozide steroidice de origine vegetală conform părții steroidice a structurii chimice sunt divizate în două grupe: glicozide steroidice din seria spirostanului (spirostanolice) și din seria furostanului (furostanolice). Conform proprietăților chimice și activității biologice glicozidele spirostanolice (capsicozina, tomatonina) diferă de cele furostanolice (tomatozida, capsicozida) [10]. În rezultatul cercetărilor noastre s-a constatat că indicele de activitate antioxidantă a glicozidelor furostanolice: capsicozida și tomatozida mai mare corespunzător de 1,68 și 2,06 ore, decât al preparatului de referință. Activitatea antioxidantă a preparatului de referință (asparagozidei) exprimată prin echivalentul acidului galic (GAE) este egală cu $45,58 \pm 1,49 \mu\text{M/g}$. Glicozide spirostanolice testate (tomatonina, capsicozina) posedă proprietăți antioxidante relativ slabe, în comparație cu glicozidele furostanolice indicele GAE a glicozidelor spirostanolice sunt de 25-30 ori mai mici. Așa dar, cercetările efectuate au arătat că glicozidele furostanolice au fost mai active în captarea radicalilor liberi decât glicozidele spiro-

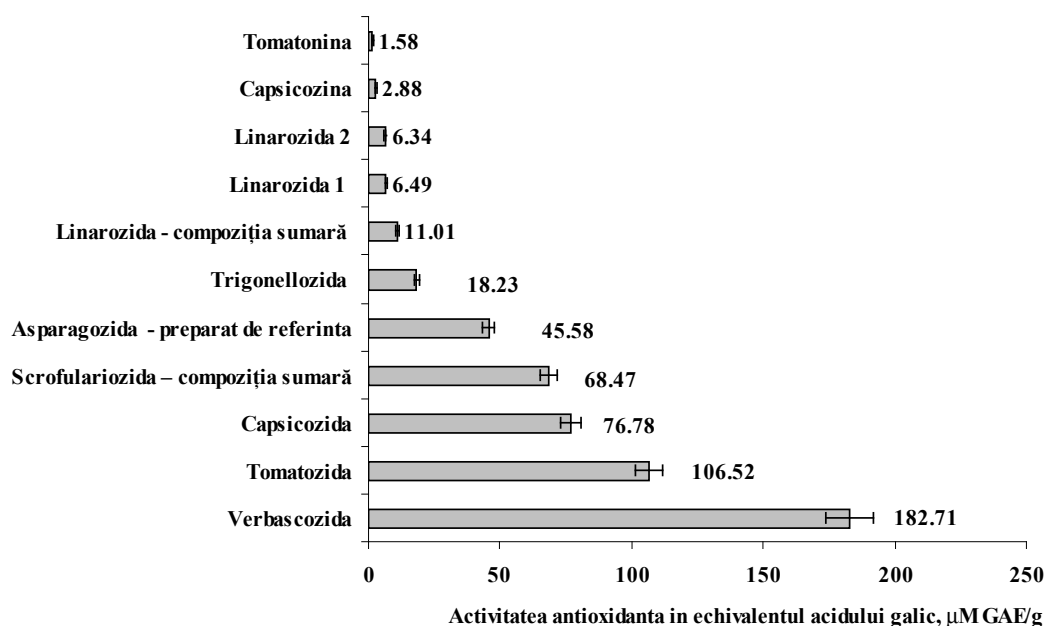


Fig.1. Activitatea antioxidantă a glicozidelor testate

tanolice. Activitatea antioxidantă a glicozidelor furostanolice poate fi explicată prin prezența în structura lor chimică a unui atom de hidrogen mobil în grupa hidroxil care captează peroxil radicalul cu formarea radicalului stabil ceea ce inhibă reacția de oxidare.

Din 10 compoziții de substanțe glicozidice de origine vegetală testate la activitatea antioxidantă cea mai activă este verbascozida urmărită de tomatozida și capsicozida (fig.1). Glicozide spirostanolice - tomatonina și capsicozina au demonstrat o activitate slabă în comparație cu toate glicozide analizate.

Concluzii.

1. După indicele de activitate antioxidantă glicozidele pot fi aranjate în următoarea consecutivitate: glicozide fenolice > glicozide steroidice furostanolice > glicozide iridoidice > glicozide steroidice spirostanolice.

2. Conform relației structura-activitatea a glicozidelor testate activitatea antioxidantă în mare măsură este legată de numărul de grupări hidroxil și de lungimea lanțurilor de zahăr în structura chimică.

3. Glicozide – verbascozida, tomatozida și capsicozida posed activitatea antioxidantă înaltă și pot fi recomandate pentru utilizarea în calitatea de adaptogeni.

Referințe:

1. Kintia P. Chemistry and biological activity of steroid saponins from Moldovian plants. In: Gherghe R.Waller, Kazuo Yamasaki editors. Saponins used in traditional and modern medicine, New York: plenum Press; 1996: 309-334.
 2. Soric I. V. The antiviral and immunomodulating activity study of tomatozid. London:Academic Press; 2000.
 3. Chintea P, Spînu C, Jacota A, et al. Glicozidele steroidice biologice active de origine vegetală. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe Medicale 2008; 3: 197-203.
 4. Sano M, Yoshida R, Degawa M, et al. Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator. J. Agric. Food Chem. 2003; 51: 10: 2912-16.
 5. Ivanova R. Evaluarea activității antiradicale in vitro a bioantioxidanților prin metoda potențiometrică. In: Materialele conferinței științifico-practice „Ziua medicamentului la INF. Medicamentul de la idee la farmacie”. Chișinău; 2004.
 6. Goreanu GH, Bobeica V, Chintea P, et al. Activitatea antiradicale a glicozidelor steroidice izolate din *Asparagus officinalis* L. Curierul medical 2009; 3: 309: 53-55.
 7. Иванова РА, Мащенко НЕ, Кинтя ПК. Способность полифенольных гликозидов из *Verbascum densiflorum* Bertol улавливать *in vitro* пероксил радикалы. In: Материалы Международной научной конференции «Биологически активные вещества растений – изучение и использование», Минск: ГНУ «Центральный ботанический сад Академии наук Беларуси»; 2013.
 8. Akdemir ZS, Tatli II, Bedir E, Khan IA. Neolignan and phenylethanoid glycosides from *Verbascum salviifolium* Boiss. Turk J.Chem. 2004: 28: 621-8.
 9. Tatli II, Takamatsu S, Khan IA, Akdemir ZS. Screening for free radical scavenging and cell aggregation inhibitory activities by secondary metabolites from Turkish *Verbascum* species. Z. Naturforsch 2007; 62: 673-8.
 10. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана. под ред. Лазуревского ГВ, Кишинев: Штиинца; 1987.
-